

「特別推進研究」研究期間終了後の効果・効用、波及効果に関する自己評価書

- 研究代表者氏名 森島 績（京都大学・工学研究科・教授）
- 研究分担者氏名 石森 浩一郎（京都大学・工学研究科・助教授）
高橋 聡（大阪大学・蛋白質研究所・助教授）
若杉 桂輔（京都大学・工学研究科・助手）
- 研究課題名「構造及び機能単位としてのモジュールを組み合わせた新規蛋白質の分子設計と創製」
- 課題番号 12002008
- 補助金交付額（直接経費のみ）

平成12年度	222,000千円
平成13年度	70,000千円
平成14年度	30,000千円
平成15年度	30,000千円

【研究期間終了後の効果・効用、波及効果に関する内容】

1. 特別推進研究の研究期間終了後、研究代表者自身の研究がどのように発展したか。

(1) 概要

<特別推進研究終了後の所属先の変更>

森島 績 教授（研究代表者）：平成16年3月にて定年退官後、京都大学大学院・工学研究科・名誉教授、立命館大学・生命科学部・客員教授。平成17年より科学技術振興機構（JST）さきがけ研究「生命現象と計測分析」領域の研究総括

石森 浩一郎 助教授（研究分担者）：平成17年4月より北海道大学大学院・理学研究院化学部門・教授

若杉 桂輔 助手（研究分担者）：平成17年12月より東京大学大学院・総合文化研究科広域科学専攻生命環境科学系・准教授

<特別推進研究終了後の研究展開>

1) ヒト Ngb の神経細胞死抑制機構の解明

2000年、脳神経細胞に特異的に発現し、可逆的な酸素結合が可能な蛋白質「ニューログロビン(Ngb)」が発見され、ヒト Ngb に酸化ストレスに伴う神経細胞死を抑制する働きがあることが明らかになった。しかし、その神経細胞死の抑制メカニズムはまだ不明であった。特別推進研究の期間中、ヒト Ngb の神経細胞死の抑制メカニズムの解明を目指した結果、酸化ストレスにより生じる酸化型 Ngb が、ヘテロ三量体 G タンパク質の α サブユニット($G\alpha$)と特異的に結合し、さらに、「GDP/GTP 交換反応抑制タンパク質(GDI)」として機能することが明らかになった。特別推進研究の期間終了後は、この仮説を実際に細胞を使って検証することに挑んだ。具体的には、ヒトの Ngb が持つ GDP/GTP 交換反応抑制蛋白質(GDI)としての活性の重要性について明らかにするために、GDI 活性を持たないヒトの Ngb 変異体、及び、GDI 活性を持つヒト Ngb 変異体を細胞に導入し、酸化ストレス下での細胞死抑制能について検討した。その結果、ヒト Ngb の神経細胞死抑制活性に GDI 活性が極めて重要であることが明らかになった。

2) ヒト Ngb と $G\alpha$ 蛋白質複合体の結合部位の解析

ヒト Ngb のシグナル制御機構を分子レベルで明らかにすることを目的として、Ngb と $G\alpha$ の結合部位の特定を目指した。まず、架橋させた Ngb- $G\alpha$ 蛋白質複合体を準備し、プロテアーゼ

処理したペプチド断片を、ペプチド質量測定に適しているマトリックス支援イオン化-飛行時間型質量分析装置 (MALDI-TOF MS) により測定した。その結果、Ngb と G α の結合部位を詳細にアミノ酸レベルで特定することに成功した。

3) ゼブラフィッシュ Ngb の「細胞膜貫通特性」の発見

ヒト Ngb には細胞膜貫通特性はないが、ゼブラフィッシュ Ngb には細胞の外から細胞内に自ら移行する働き「細胞膜貫通特性」があることが明らかになった。この発見により、今回はじめて細胞膜貫通特性を持つグロビン蛋白質の存在が明らかになった。

4) 細胞の外から細胞質内へ移行し神経保護作用のある新規モジュール置換蛋白質の創出

ヒト Ngb 及びゼブラフィッシュ Ngb はともに構造単位「モジュール」M1 から M4 で構成されている。ゼブラフィッシュ Ngb 特有の細胞膜貫通特性に重要なゼブラフィッシュ Ngb 由来のモジュール M1 と、ヒト Ngb 特有の GDI 活性 (細胞死保護作用) に重要なヒト Ngb 由来のモジュール M2 ~M4 の融合蛋白質「モジュール置換 Ngb」を作製し、機能解析を行った。その結果、ゼブラフィッシュ Ngb は GDI 活性を持たないが、このモジュール置換 Ngb は、ヒト Ngb 同様の GDI 活性を持ち、ゼブラフィッシュ Ngb 同様の細胞膜貫通特性を有することが明らかになった。すなわち、細胞の外の培養液に加えておくだけで細胞質内に入っていく酸化ストレスに伴う神経細胞死を保護する働きがある新規蛋白質の創製に成功したことが明らかになり、モジュール置換法の有効性を実証することができた。

5) ヒトのトリプトファン tRNA 合成酵素 (TrpRS) の制御機構の解明、及び、その多機能化に関する分子進化的解明

ヒトの TrpRS は、tRNA にトリプトファンを付加させる反応 (アミノアシル化反応) を触媒する酵素である。特別推進研究の期間中に、酸化ストレス応答性解糖系の酵素であるグリセルアルデヒド 3-リン酸デヒドロゲナーゼ (GapDH) がヒト TrpRS に結合し、ヒト TrpRS のアミノアシル化活性を制御することを見出した。特別推進研究の期間終了後は、ヒト TrpRS のアミノアシル化活性のさらなる制御機構の解明を目指した。その結果、ヒトの TrpRS はヘムと結合し、TrpRS 活性を上昇させることが明らかになった。さらに、部位特異的なアミノ酸置換により、ヘムと結合しない TrpRS 変異体 (H130R TrpRS) の創製に成功した。ヒトの TrpRS は、プロテアーゼによる切断後、血管新生抑制因子として働く。現在、ヒト TrpRS が多機能性蛋白質になった分子進化的な必然性の解明に向けて、様々な生物種由来の TrpRS をクローニングし、大腸菌を用いた大量発現、精製を行い、構造及び機能解析を詳細に解析し、さらに、変異体を用いた解析を駆使することにより、TrpRS 進化におけるモジュール構造の重要性についての検証に挑んでいる。

6) 新たなヘム結合モチーフを有する新規金属蛋白質の構造・機能解析

本特別推進研究で検討を行ったヘム結合モジュールに続いて、ヘムを制御因子として利用している一群の蛋白質においても、ヘム結合の機能を有するアミノ酸配列 CP モチーフ (ヘム制御モチーフ) が、その機能発現に重要であることが見出された。これらの蛋白質の機能は転写、翻訳、リン酸化など多岐にわたっており、生体内においてヘムが単に蛋白質の活性中心ではなく、蛋白質機能の調整因子やシグナル伝達分子として機能していることを示唆している。しかし、これらの蛋白質の多くはその構造が不安定であり、従来分光学的な手法ではその詳細な構造化学的検討が困難であった。そこで、本特別推進研究の遂行にあたって、開発した不安定化蛋白質の分光学的解析の手法を応用することで、いずれも CP モチーフを有し、ヘムの結合によってその機能が制御されるヘム生合成転写因子 Irr (Iron Response Regulator)、鉄代謝制御蛋白質 IRP2 (Iron Regulatory Protein 2)、アミノ酸合成制御リン酸化酵素 HRI (Heme-regulated Inhibitor) 等の、従来からその生理的な重要性が指摘されながらその構造や機能解析が大きく遅れていたヘム依存性制御蛋白質の機能発現の分子機構のいくつかを明らかにすることができた。

7) 呼吸鎖電子伝達蛋白質における電子伝達機構の解明

本特別推進研究遂行の過程で、駆使した希薄濃度、不安定蛋白質の多核多次元 NMR 測定手法を応用することで、呼吸鎖末端酸化酵素であるシトクロム酸化酵素 (C₆O) とその電子供与体であるシトクロム c (Cyt c) との電子伝達反応の構造化学的検討を行った。Cyt c は分子量 1 万程度の比較的小さな蛋白質で、その構造化学的検討は容易であるが、C₆O との電子伝達反応を解析するには分子量 16 万を超える膜蛋白質である C₆O との結合部位の同定が必須である。本特別推進研究において設置した超高感度冷却プローブ装着 NMR 装置を駆使することで、この Cyt c における C₆O 結合部位を同定することができ、酸素呼吸生物には必須の呼吸鎖末端における酸素の 4 電子還元機構の一端を分子レベルで解明することに成功した。

- 8) 多次元多核 NMR を用いた蛋白質立体構造形成過程における分子機構の解明
モジュール置換蛋白質では多くの場合、構造が不安定化しており、その構造の安定化が大きな課題であった。本特別推進研究では、主にランダム変異によりその構造の安定化を図ってきたが、その構造安定化の効率は高くなく、蛋白質立体構造形成そのものの分子メカニズムを明らかにすることも重要であることが明らかとなってきた。そこで、蛋白質立体構造の形成過程を経時的に追跡できる NMR における H/D 交換法を利用して、蛋白質立体構造形成過程における構造変化を追跡した。その結果、蛋白質立体構造形成の際には、特定の部位が先行して構造を形成し、それらの部位が核となって周辺の構造が形成されることを示すことができた。
- 9) 1 分子計測による蛋白質立体構造形成過程の解析
蛋白質立体構造形成の分子機構をさらに詳細に明らかにするためには、一定の立体構造をとらない変性状態から、一定の安定な構造の天然状態までの構造変化を追跡する必要がある。しかし、変性状態の構造は一定ではないため、どのような変性状態の構造からどのような構造変化の経路をたどって天然状態に至るのかについて検討することは困難である。そこで、蛋白質一分子の立体構造形成過程を追跡することで、実際にどのような構造をもつ変性状態から天然状態への構造変化が起こるのかを検討した。このような実験の実現のため、独自の一分子測定用時分割蛍光追跡装置を開発し、蛍光剤でラベルした蛋白質一分子の構造変化を、その蛍光強度変化を観測することでその追跡に成功した。

(2) 論文発表、国際会議等への招待講演における発表など

<特別推進研究の期間終了後の関連領域の論文発表>

1. “Zebrafish neuroglobin is a cell-membrane-penetrating globin”, Watanabe, S., and Wakasugi, K. (2008) *Biochemistry* **47**, 5266-5270.
2. “Neuroprotective function of human neuroglobin is correlated with its guanine nucleotide dissociation inhibitor activity”, Watanabe, S., and Wakasugi, K. (2008) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **369**, 695-700.
3. “Hierarchical Folding Mechanism of Apomyoglobin Revealed by Ultra-fast H/D Exchange Coupled with 2D NMR”, Uzawa, T., Nishimura, C., Akiyama, S., Ishimori, K., Takahashi, S., Dyson, H. J., Wright, P. E. (2008) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **105**, 13859-13864.
4. “Dehydration of Main-chain Amides in the Final Folding Step of Single-chain Monellin Revealed by Time-resolved Infrared Spectroscopy,” Kimura, T., Maeda, A., Nishiguchi, S., Ishimori, K., Morishima, I., Konno, T., Goto, Y., Takahashi, S. (2008) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **105**, 13391-13396.
5. “Heme-binding characteristics of the isolated PAS-A domain of mouse Per2, a transcriptional regulatory factor associated with circadian rhythms”, Kitanishi, K., Igarashi, J., Hayasaka, K., Hikage, N., Saiful, I., Yamauchi, S., Uchida, T., Ishimori, K., Shimizu, T. (2008) *Biochemistry*, **47**, 6157-6168.

6. "Development of a technique for the investigation of folding dynamics of single proteins for extended time periods", Kinoahita, M., Kamagata, K., Maeda, A., Goto, Y., Komatsuzaki, T., Takahashi, S. (2007) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 104, 10453-10458.
7. "Disulfide bond influence on protein structural dynamics probed with 2D-IR vibrational echo spectroscopy", Ishikawa, H., Kim, S., Kwak, K., Wakasugi, K., and Fayer, M. D. (2007) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 104, 19309-19314.
8. "Neuroglobin dynamics observed with ultrafast 2D-IR vibrational echo spectroscopy", Ishikawa, H., Finkelstein, I. J., Kim, S., Kwak, K., Chung, J. K., Wakasugi, K., Massari, A. M., and Fayer, M. D. (2007) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 104, 16116-16121.
9. "Human tryptophanyl-tRNA synthetase binds with heme to enhance its aminoacylation activity", Wakasugi, K. (2007) *Biochemistry* 46, 11291-11298.
10. "Molecular basis of guanine nucleotide dissociation inhibitor activity of human neuroglobin by chemical cross-linking and mass spectrometry", Kitatsuji, C., Kuroguchi, M., Nishimura, S.-I., Ishimori, K., and Wakasugi, (2007) *K. J. Mol. Biol.* 368, 150-160
11. "Unique peroxidase reaction mechanism in prostaglandin endoperoxide H synthase-2: compound I in prostaglandin endoperoxide H synthase-2 can be formed without assistance by distal glutamine residue", Ichimura, S., Uchida, T., Taniguchi, S., Hira, S., Tosha, T., Morishima, I., Kitagawa, T., Ishimori, K. (2007) *J. Biol. Chem.* 282, 16681-16690.
12. "A Rapid Flow Mixer with 11- μ s Mixing Time Microfabricated by a Pulsed-laser Ablation Technique: Observation of a Barrier-limited Collapse in Cytochrome *c* Folding", Matsumoto, S., Yane, A., Nakashima, S., Hashida, M., Fujita, M., Goto, Y., Takahashi, S. (2007) *J. Am. Chem. Soc.* 129, 3840-3841.
13. "Dehydration in the Folding of Reduced Cytochrome *c* Revealed by the Electron-Transfer-Triggered Folding under High Pressure", Kimura, T., Sakamoto, K., Morishima, I., Ishimori, K. (2006) *J. Am. Chem. Soc.*, 128, 670 - 671.
14. "Time-Resolved Small Angle X-ray Scattering Investigation on the Folding Dynamics of Heme Oxygenase: Implication of the Scaling Relationship for the Submillisecond Intermediates of Protein Folding", Uzawa, T., Kimura, T., Ishimori, K., Morishima, I., Matsui, T., Ikeda-Saito, M., Takahashi, S., Akiyama, S., Fujisawa, T. (2006) *J. Mol. Biol.*, 357, 997-1008.
15. Electron Transfer Reaction in Single Protein Molecule Observed by Total Internal Reflection Fluorescence Microscopy, Furukawa, Y., Ban, T., Hamada, D., Ishimori, K., Goto, Y., Morishima, I., (2005) *J. Am. Chem. Soc.*, 127, 2098-2103.
16. Specific Collapse Followed by Slow Hydrogen-bond Formation of β -sheet in the Folding of Single-chain Monellin, Kimura, T., Uzawa, T., Ishimori, K., Morishima, I., Takahashi, S., Konno, T., Akiyama, S., Fujisawa, T., (2005) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 102, 2748-2753.
17. Structural Diversities of Active Site in Clinical Azole Bound Forms between Sterol 14 α -demethylases (CYP51) from Human and *Mycobacterium tuberculosis*, Matsuura, K., Yoshioka, S., Tosha, T., Hori, H., Ishimori, K., Kitagawa, T., Morishima, I., Kagawa, N., Waterman, M. R., (2005) *J. Biol. Chem.*, 280, 9088-9096.
18. Two Heme Binding Sites Are Involved in the Regulated Degradation of the Bacterial Iron Response Regulator (Irr) Protein, Yang, J., Ishimori, K., O'Brian, M. R., (2005) *J. Biol. Chem.*, 280, 7671-7676.
19. Specifically Collapsed Intermediate in the Early Stage of the Folding of Ribonuclease A, Kimura T, Akiyama S, Uzawa T, Ishimori K, Morishima I, Fujisawa T, Takahashi S., (2005) *J. Mol. Biol.*, 350, 349-362.
20. Involvement of Heme Regulatory Motif in Heme-Mediated Ubiquitination and Degradation of IRP2, Ishikawa H, Kato M, Hori H, Ishimori K, Kirisako T, Tokunaga F, Iwai K. (2005) *Mol. Cell.*, 19, 171-181.
21. Absence of a Detectable Intermediate in the Compound I Formation of Horseradish Peroxidase at Ambient Temperature, Shintaku, M., Matsuura, K., Takahashi, S., Ishimori, K., Morishima, I. (2005) *J. Biol. Chem.*, 280, 40934-40938.
22. "Functional characterization of human brain neuroglobin", Wakasugi, K., and

<特別推進研究の期間終了後の関連領域の学会発表、招待講演>

1. Ishimori, K. "A Heme-dependent Transcription Factor, Irr, Is a Unique Oxidase Oxidizing Own Peptide" Challenges in Advanced Chemistry ? The 4th Hokkaido - Nanjing University Joint Symposium-, Sapporo, Japan, December 17, 2008. (招待講演)
2. 渡邊征爾、若杉桂輔 「ゼブラフィッシュのニューログロビンは細胞膜貫通特性をもつ」、BMB2008 (第31回日本分子生物学会年会、第81回日本生化学会大会 合同大会)、神戸ポートアイランド、2008年12月11日
3. 若杉桂輔 「ヘムによるヒトのトリプトファン tRNA 合成酵素の活性制御」、BMB2008 (第31回日本分子生物学会年会、第81回日本生化学会大会 合同大会)、神戸ポートアイランド、2008年12月10日
4. Ishimori, K. "A Novel Heme-mediated Oxidation Mechanism in Heme-regulated Transcription Factor", The 8th International Porphyrin-Heme Symposium, Matsue, Japan, October 15-16, 2008. (招待講演)
5. Kitatsuji, C., Nakamura, A., Kurogochi, M., Nishimura, S. I., O'Brian, R. M., Ishimori, K. "A novel heme-mediated oxidation mechanism of Irr", Gordon Conference: Chemistry & Biology of Tetrapyrroles, New Port, RI, USA, July 20-25, 2008. (招待講演)
6. Kitatsuji, C., Nakamura, A., O'Brian, M. R., Iwai, K., Ishimori, K. "A Unique Heme-mediated Oxidation Mechanism in Iron Responsible Regulator" 5th International Conference on Porphyrins and Phthalocyanines, Moscow, Russia, July 6-11, 2008. (招待講演)
7. Ishimori, K. "A Unique Self-oxidative Mechanism in the Heme-regulated Transcription Factor", Taiwan-Japan International Symposium on Organic Chemistry and Molecular Science, Taipei, Taiwan, April 18-20, 2008. (招待講演)
8. Ishimori, K. "A Unique Self-oxidative Modification Mechanism in the Heme-regulated Transcription Factor", Joint Symposium of "5th Japan-China Crossover Science Symposium (JCCSS5)" and "Ibaraki University President Project - Establishment of the Quantum Biomolecular Sciences", Mito, Japan, February 28-29, 2008. (招待講演)
9. 石森浩一郎 「ヘムをリガンドとするセンサー蛋白質の構造と機能」、第45回日本生物物理学会年会、横浜、2007年12月21-23日 (招待講演)
10. 渡邊征爾、若杉桂輔 「ニューログロビンの酸化ストレス下での神経細胞死抑制機構の解明」、BMB2007 (第30回日本分子生物学会年会及び第80回日本生化学会大会の合同年会)、パシフィコ横浜、2007年12月14日
11. 石森浩一郎 「ヘムを制御因子とするセンサー蛋白質の構造と機能」、第30回日本分子生物学会年会 第80回日本生化学会大会 合同大会、横浜、2007年12月11-15日 (招待講演)
12. Wakasugi, K. "Oxidative stress-responsive intracellular regulation for human tryptophanyl-tRNA synthetase", The 1st international conference on ARS network and signaling. Hoam Convention Center, Seoul, Korea, November 12-13, 2007. (招待講演)
13. Ishimori, K. "Heme Binding and Heme-mediated Oxidative Modification in Heme-regulated Proteins", The 67th Okazaki Conference: Molecular Science and Chemical Biology of Biomolecular Science, Okazaki, Japan, November 10-12, 2008. (招待講演)
14. 坂本 光一, 神谷 昌克, 伊藤-新澤 恭子, 相澤 智康, 出村 誠, 河野 敬一, 吉川 信也, 石森浩一郎 「呼吸鎖末端酸化酵素に対するシトクロム c の電子輸送メカニズム」第46回 NMR 討論会、札幌、2007年9月11-13日 (招待講演)
15. 石森浩一郎 「圧力効果を用いた蛋白質立体構造形成過程の検討」、第15回生物関連高圧研究会シンポジウム、横浜、2007年9月6-7日 (招待講演)
16. 石森浩一郎 「自らを基質とする酸化酵素としてのヘム依存性制御蛋白質」、第7回蛋白質科学学会年会、仙台、2007年5月24-26日 (招待講演)
17. Ishimori, K. "NMR Approaches in Hemoproteins: Paramagnetic, Ring-current Shifted and

- Multi-dimensional NMR “, Hokkaido University - Seoul National University Joint Symposium "Symposium on Structural Analysis of Biological Macromolecules", Sapporo, Japan, January, 25-26, 2007.
(招待講演)
18. Sakamoto, K., Kamiya, M., Shinzawa-Itoh, K., Aizawa, T., Demura, M., Kawano, K., Yoshikawa, S., Ishimori, K. “Structural Characterization of the Electron Transfer Complex between Cytochrome c and Cytochrome c Oxidase by NMR “, Hokkaido University - Seoul National University Joint Symposium "Symposium on Structural Analysis of Biological Macromolecules", Sapporo, Japan, January, 25-26, 2007.
(招待講演)
 19. 若杉桂輔 「ニューログロビンの神経細胞死抑制機構の解析」、東京大学生命科学研究ネットワークシンポジウム、東京、2006年11月25日
 20. Ishimori K. “New Function of Heme Binding in Biological System: A Trigger for Oxidative Modification and Protein Degradation”, Japan-China Crossover Science Symposium, Mito, Japan, October 14-18, 2006.
(招待講演)
 21. 若杉桂輔 「新規グロビン蛋白質「ニューログロビン」の機能解析」、キリン腎臓シンポジウム (分子メカニズムの解明から画期的創薬の可能性を探る)、東京大学山上会館、2006年10月7日 (招待講演)
 22. 石森 浩一郎 「こわれて役立つ蛋白質—ヘム依存性制御蛋白質におけるヘム結合とその蛋白質分解機構—」、生物無機化学夏季セミナー、神戸、2006年8月5-7日 (招待講演)
 23. 若杉桂輔 「新規機能性蛋白質の探索と創製」、第28回 Craftie Salon、(財) 癌研究会癌研究所蛋白質創製研究部、東京、2006年6月26日
 24. Ishimori, K., “Heme Binding to Heme Regulatory Motif (HRM) in Heme-regulated Sensor Proteins “, Biochemistry and Molecular Biology of Sensor Enzymes and Proteins, Sendai, Japan, June 15-16, 2006.
(招待講演)
 25. Kitatsuji, C., Kurogochi, M., Nishimura, S.-I., Ishimori, K., and Wakasugi, K. “Molecular mechanism of GDI activity of human neuroglobin by chemical cross-linking and mass spectrometry.” 20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11th FAOBMB Congress, Kyoto, June 18-23, 2006.
 26. Kitatsuji, C., Kurogochi, M., Nishimura, S.-I., Ishimori, K., and Wakasugi, K. “Molecular mechanism of GDI activity in neuroglobin by chemical cross-linking and mass spectrometry.” Post-Hayaishi symposium at Spring-8: Chemical biology in redox metalloenzymes, Hyogo, April 14-15, 2006.
 27. Kitatsuji, C., Kurogochi, M., Nishimura, S.-I., Ishimori, K., and Wakasugi, K. “Molecular mechanism of GDI activity of human neuroglobin by chemical cross-linking and mass spectrometry.” Regulation of protein function through post-translational modifications: new technologies and application to biomedical systems, Sapporo, March 16-17, 2006.
 28. 北辻千展、黒河内政樹、西村紳一郎、石森浩一郎、若杉桂輔 「架橋試薬と質量分析法を用いた脳内グロビン蛋白質ニューログロビンの三量体 G 蛋白質 α サブユニットに対するシグナル制御機構の解明」、日本生物物理学会 北海道支部例会、札幌、2006年3月1日
 29. 石森 浩一郎 「鉄代謝制御蛋白質におけるヘム結合様式とその機能発現の分子機構」、分子研研究会 「生体における金属イオンの役割とその利用」、岡崎、2006年3月18-20日 (招待講演)
 30. Ishimori, K. “Heme Binding to Heme-regulated Sensor Proteins: A Trigger for Oxidative Modification and Protein Degradation”, Regulation of Protein Function through Post-translational Modifications: New Technologies and Application to Biomedical Systems, Sapporo, Japan, March 16-17, 2006 (招待講演)
 31. 石森 浩一郎 「種々の分光法を用いた新規金属蛋白質の構造解析とその機能発現の分子機構」、日本化学会 生体機能関連化学部会 北海道支部講習会 「生命の謎と魅力を語るケミカルバイオロジー」、札幌市、2006年3月10日 (招待講演)
 32. 北辻千展、石森浩一郎、若杉桂輔 「MALDI-TOF MS による脳内グロビン蛋白質ニューログロビンと三量体 G 蛋白質 α サブユニットとの結合部位の解析」、第28回日本分子生物学会年会、福岡、2005年12月7日-10日
 33. 石森浩一郎 「ヘム酸化酵素反応中間体におけるラジカル形成の制御機構とその反応設計」、森

林園資源科学セミナー，福岡，2005年12月7日（招待講演）

34. Wakasugi, K., and Morishima, I. “Functional characterization of human brain neuroglobin”, 10th World Congress on Advances in Oncology and 8th International Symposium on Molecular Medicine, Creta Maris, Greece, October 13-15, 2005.（招待講演）
35. 若杉桂輔「ニューログロビンの生理機能」、第10回酸素ダイナミクス研究会（10周年記念大会）、阪急ターミナルビル、大阪、2005年9月17日（招待講演）
36. Nakagaki, M., Bamba, A., Ishikawa, H., Uchida, T., Takahashi, S., Morishima, I., Kitagawa, T., Iwai, K., Mark R. O’Brian, M. R., Ishimori, K. “Spectral Characterization of Heme Binding to Heme Regulatory Motif (HRM) in Iron Responsive Regulator (Irr) Protein”, VII International Peroxidase Symposium, Fukuoka, Japan, September 11-15, 2005.（招待講演）
37. Kitatsuji, C., Wakasugi, K., Nakano, T., and Morishima, I. “Human neuroglobin interacts with flotillin-1, a crucial structural component of lipid raft microdomain”, 12th International Conference on Biological Inorganic Chemistry. Ann Arbor, Michigan, USA, July 31-August 5, 2005.

(3) 研究費の取得状況（研究代表者として取得しているもののみ）

平成20年度～現在（21年度（予定））

科学研究費補助金 特定領域研究（研究代表者：石森浩一郎）

「電子伝達蛋白質複合体の構造化学的解明とその会合・解離の分子機構」

金額 6,000,000 円

平成20年度

科学研究費補助金 萌芽研究（研究代表者：高橋 聡）

「蛋白質翻訳過程の一分子観察法の確立」

金額 1,700,000 円

平成19年度～現在（～22年度（予定））

科学技術振興機構 戦略的創造研究推進事業 さきがけ（個人型研究）「生命現象と計測分析」

領域 研究代表者（研究代表者：若杉 桂輔）

「蛋白質工学的的手法による細胞内環境の計測」

金額 40,000,000 円

平成19年度

科学研究費補助金 特定領域研究（研究代表者：石森浩一郎）

「高圧分光法を用いた蛋白質における構造的揺らぎの解析」

金額 1,900,000 円

平成19～20年度

科学研究費補助金 基盤研究(C)（研究代表者：若杉 桂輔）

「ニューログロビンの細胞死抑制機構の解明と蛋白質工学的改変」

金額 3,500,000 円

平成19年度

武田科学振興財団 一般研究奨励（研究代表者：若杉 桂輔）

「アミノアシル tRNA 合成酵素の血管新生制御メカニズムの解明」

金額 2,000,000 円

平成18～20年度

科学研究費補助金 特定領域研究（研究代表者：石森浩一郎）

「ヘム依存性転写制御複合体の構造と機能」

金額 6,500,000 円

平成18～19年度

科学研究費補助金 特定領域研究 (研究代表者:石森浩一郎)

「圧力を用いた分子体積プロファイル解析による蛋白質立体構造形成過程での水分子の寄与」

金額 13,000,000 円

平成18年度

寿原記念財団 (研究代表者:石森浩一郎)

「構造・機能情報を基にした金属イオンを活性中心とするハイパーエンザイムの分子設計と創製」

金額 2,000,000 円

平成18年度

倉田奨学金 (研究代表者:石森浩一郎)

「ナノハイブリッド化 P450 による電気化学的酸素添加反応の設計」

金額 1,100,000 円

平成18～19年度

科学研究費補助金 特定領域研究 (研究代表者:高橋 聡)

「一分子計測法による蛋白質の折り畳み運動の観測」

金額 7,700,000 円

平成18年度

第18回 加藤記念研究助成 (研究代表者:若杉 桂輔)

「蛋白質間相互作用に着目したトリプトファン tRNA 合成酵素」の新規機能の探索」

金額 2,000,000 円

平成18年度

21世紀 COE 奨励研究 (東京大学大学院総合文化研究科) (研究代表者:若杉 桂輔)

「多機能性蛋白質「アミノアシル tRNA 合成酵素」の分子進化過程の解明」

金額 1,100,000 円

平成18年度

財団法人 医薬資源研究振興会 研究奨励金 (研究代表者:若杉 桂輔)

「ストレス応答に着目したアミノアシル tRNA 合成酵素の新規機能の解明」

金額 500,000 円

平成18年度

財団法人 ホクト生物科学振興財団 (研究代表者:若杉 桂輔)

「新規血管新生抑制因子「トリプトファン tRNA 合成酵素」の蛋白質工学的解析」

金額 500,000 円

平成17年度

公益信託 成茂神経科学研究助成基金 (研究代表者:若杉 桂輔)

「神経細胞内に局在するニューログロビンの神経細胞死抑制機構の解明」

金額 300,000 円

平成17年度

財団法人 住友財団 2005年度基礎科学研究助成 (研究代表者:若杉 桂輔)

「酸化ストレスに対する細胞内応答の人工制御」

金額 800,000 円

平成 16 年度

興和生命科学振興財団（平成 16 年度）研究助成（奨学寄附金）（研究代表者：若杉 桂輔）
「酸化ストレスに応答する新規蛋白質の構造及び機能解析」

金額 1,000,000 円

平成 16～17 年度

科学研究費補助金 特定領域研究（研究代表者：石森浩一郎）

「圧力を用いた蛋白質立体構造形成の遷移過程における水分子の寄与の解明」

金額 9,300,000 円

平成 16～17 年度

科学研究費補助金 特定領域研究（研究代表者：高橋 聡）

「新しい一分子計測法による蛋白質の折り畳みダイナミクス」

金額 12,300,000 円

平成 16 年度

京都大学教育研究振興財団 国際研究集会派遣助成（研究代表者：若杉 桂輔）

「7th International Conference on Neuroprotective Agents: Clinical and Experimental Aspects への渡航費及び滞在費の補助」

金額 150,000 円

(4) 特別推進研究の研究成果を背景に生み出された新たな発見・知見

< 特別推進研究終了後の研究展開 >

1) ヒト Ngb の神経細胞死抑制機構の解明

2000 年、脳神経細胞に特異的に発現し、可逆的な酸素結合が可能な蛋白質「ニューログロビン(Ngb)」が発見され、ヒト Ngb に酸化ストレスに伴う神経細胞死を抑制する働きがあることが明らかになった。特別推進研究の期間中、ヒト Ngb の神経細胞死の抑制メカニズムの解明を目指した結果、酸化ストレスにより生じる酸化型 Ngb が、ヘテロ三量体 G タンパク質の α サブユニット ($G\alpha$) と特異的に結合し、「GDP/GTP 交換反応抑制タンパク質 (GDI)」として機能することが明らかになった。一方、通常酸素結合型 Ngb は $G\alpha$ と結合できないことも明らかになった。以上のことから、Ngb は酸化ストレス応答性のセンサー蛋白質として働き、酸化ストレスを受けた時のみ $G\alpha$ と結合し、 $G\alpha$ の GDI として機能することにより、神経細胞死を抑制している可能性が高まった。特別推進研究の期間終了後は、この仮説を実際に細胞を使って検証することに挑んだ。具体的には、ヒトの Ngb が持つ GDP/GTP 交換反応抑制蛋白質 (GDI) としての活性の重要性について明らかにするために、GDI 活性を持たないヒトの Ngb 変異体 (E53Q, R97Q, E118Q, E151N)、及び、GDI 活性を持つヒト Ngb 変異体 (R47A, K102N, K119N, D149A) を PC12 細胞に導入し、酸化ストレス下での細胞死抑制能について検討した。GDI 活性を持たないヒトの Ngb 変異体はいずれも全く細胞死を防がなかったのに対し、GDI 活性を持つヒト Ngb 変異体はすべて野生型ヒト Ngb 同様、細胞死を抑制した。この実験から、ヒト Ngb の神経細胞死抑制活性に GDI 活性が極めて重要であることが明らかになった。

2) ヒト Ngb と $G\alpha$ 蛋白質複合体の結合部位の解析

ヒト Ngb のシグナル制御機構を分子レベルで明らかにすることを目的として、Ngb と $G\alpha$ の結合部位の特定を目指した。まず、架橋させた Ngb- $G\alpha$ 蛋白質複合体を準備し、プロテアーゼ処理したペプチド断片を、ペプチド質量測定に適しているマトリックス支援イオン化-飛行時間型質量分析装置 (MALDI-TOF MS) により測定した。Ngb- $G\alpha$ 蛋白質複合体を測定して得られた

ペプチド分布を、Ngb や $G\alpha$ のみのペプチド分布と比較して、架橋されて消失したピークを特定することで、架橋部位のペプチドを同定することを試みた。その結果、Ngb と $G\alpha$ の結合部位を詳細にアミノ酸レベルで特定することに成功した。

3) ゼブラフィッシュ Ngb の「細胞膜貫通特性」の発見

ヒト Ngb には細胞膜貫通特性はないが、ゼブラフィッシュ Ngb には細胞の外から細胞内に自ら移行する働き「細胞膜貫通特性」があることが明らかになった。この発見により、今回はじめて細胞膜貫通特性を持つグロビン蛋白質の存在が明らかになった。ゼブラフィッシュ Ngb は構造単位である「モジュール」M1～M4より構成されている。ゼブラフィッシュ Ngb のモジュール M1 には細胞膜貫通特性を持つ代表的な蛋白質である HIV TAT 蛋白質同様に Arg, Lys に富む塩基配列を有することから、ゼブラフィッシュ Ngb のモジュール M1 の部分が細胞膜貫通特性に重要であると考えられる。一方、細胞内導入活性のないヒト Ngb ではこれらに対応する残基は Pro となっている。そこで、部位特異的なアミノ酸置換体を作製し、モジュール M1 内の Arg, Lys の重要性について検証した結果、これら塩基性アミノ酸残基が細胞膜貫通特性において重要であることが明らかになった。

4) 細胞の外から細胞質内へ移行し神経保護作用のある新規モジュール置換蛋白質の創出

ヒト Ngb 及びゼブラフィッシュ Ngb はともに構造単位「モジュール」M1からM4で構成されている。1)の実験結果からヒト Ngb 由来のモジュール M2～M4が GDI 活性（神経細胞保護作用）に重要であり、また、3)の実験結果からゼブラフィッシュ Ngb 由来のモジュール M1が細胞膜貫通特性に重要であることが明らかになった。そこで、特別推進研究の期間中に作製したゼブラフィッシュ Ngb 由来のモジュール M1 とヒト Ngb 由来のモジュール M2～M4 の融合蛋白質「モジュール置換 Ngb」の機能解析をさらに推し進めた。分光装置などを用いた物理化学的な解析により、このモジュール置換蛋白質は天然の蛋白質同様の安定な構造を形成していることが明らかになっている。ゼブラフィッシュ Ngb は GDI 活性を持たないが、このモジュール置換 Ngb は、ヒト Ngb 同様の GDI 活性を持ち、ゼブラフィッシュ Ngb 同様の細胞膜貫通特性を有することが明らかになった。さらに、細胞の外の培養液に加えておくだけで細胞質内に入っていき酸化ストレスに伴う神経細胞死を保護する働きがあることが明らかになり、モジュール置換法の有効性を実証することができた。

5) ヒトのトリプトファン tRNA 合成酵素 (TrpRS) の制御機構の解明、及び、その多機能化に関する分子進化学的解明

ヒトの TrpRS は、tRNA にトリプトファン(Trp)を付加させる反応（アミノアシル化反応）を触媒する酵素である。特別推進研究の期間中に、酸化ストレス応答性解糖系の酵素であるグリセルアルデヒド 3-リン酸デヒドロゲナーゼ(GapDH)がヒト TrpRS に結合し、ヒト TrpRS のアミノアシル化活性を制御することを見い出した。さらに、様々なモジュール置換蛋白質を作製し、ヒト TrpRS と結合する GapDH の結合部位を明らかにした。例えば、ミオグロビン (Mb) の N 末端側に GapDH のあるモジュールを融合したキメラ蛋白質は、野生型 Mb 同様、酸素を可逆的に配位でき、また GapDH 同様にヒト TrpRS と結合し活性を上昇させる安定な新規蛋白質であることを明らかにした。特別推進研究の期間終了後は、TrpRS のアミノアシル化活性のさらなる制御機構の解明を目指した。ヒトの TrpRS は、20種類のアミノアシル tRNA 合成酵素の中で唯一、インターフェロン- γ (IFN- γ)を添加した細胞内で発現量が増加する酵素であり、単球からマクロファージや樹状細胞への細胞分化の際にも高発現することが報告されている。そこで、IFN- γ 添加時の高発現した TrpRS のアミノアシル化活性の制御機構の解明を行った。ヒト培養細胞に、プロトポルフィリン鉄錯体であるヘムの合成阻害剤 succinylacetone を加えると TrpRS の発現量には影響を与えずに TrpRS の活性が大きく減少すること、また、この系にヘムを外から補うと TrpRS 活性が増加することを見い出した。リコンビナント蛋白質の生化学的解析から、ヒトの TrpRS は 1 : 1 の割合でヘムと結合し、ヘムの結合に伴ない TrpRS 活性が増加することを明らかにした。さらに、部位特異的なアミノ酸置換により、ヘムと結合しない TrpRS 変異体 (H130R TrpRS) の創製に成功した。現在、ヒト TrpRS にヘムが結合する生理学的意義のさらなる解明を目指している。また、TrpRS は、

分子進化の過程で、様々な alternative splicing により、モジュールの付加、欠失が数多くおきていることが明らかになってきた。ヒトの場合、alternative splicing により、血管新生抑制因子として働く mini TrpRS が産生する。現在、TrpRS が多機能性蛋白質になった分子進化的な必然性の解明に向けて、様々な生物種由来の TrpRS をクローニングし、大腸菌を用いた大量発現、精製を行い、構造及び機能解析を詳細に解析し、さらに、変異体を用いた解析を駆使することにより、TrpRS 進化におけるモジュール構造の重要性についての検証に挑んでいる。

6) 新たなヘム結合モチーフを有する新規金属蛋白質の構造・機能解析

本特別推進研究で検討を行ったヘム結合モジュールに続いて、ヘムを制御因子として利用している一群の蛋白質においても、ヘム結合の機能を有するアミノ酸配列 CP モチーフ（ヘム制御モチーフ）が、その機能発現に重要であることが見出された。これらの蛋白質の機能は転写、翻訳、リン酸化など多岐にわたっており、生体内においてヘムが単に蛋白質の活性中心ではなく、蛋白質機能の調整因子やシグナル伝達分子として機能していることを示唆している。しかし、これらの蛋白質の多くはその構造が不安定であり、従来の分光学的な手法ではその詳細な構造化学的検討が困難であった。そこで、本特別推進研究の遂行にあたって、開発した不安定化蛋白質の分光学的解析の手法を応用することで、いずれも CP モチーフを有し、ヘムの結合によってその機能が制御されるヘム生合成転写因子 Irr (Iron Response Regulator)、鉄代謝制御蛋白質 IRP2 (Iron Regulatory Protein 2)、アミノ酸合成制御リン酸化酵素 HRI (Heme-regulated Inhibitor) 等の、従来からその生理的な重要性が指摘されながらその構造や機能解析が大きく遅れていたヘム依存性制御蛋白質の機能発現の分子機構のいくつかを明らかにすることができた。

7) 呼吸鎖電子伝達蛋白質における電子伝達機構の解明

本特別推進研究遂行の過程で、駆使した希薄濃度、不安定蛋白質の多核多次元 NMR 測定手法を応用することで、呼吸鎖末端酸化酵素であるシトクロム酸化酵素 (C_oO) とその電子供与体であるシトクロム *c* (Cyt *c*) との電子伝達反応の構造化学的検討を行った。Cyt *c* は分子量 1 万程度の比較的小さな蛋白質で、その構造化学的検討は容易であるが、C_oO との電子伝達反応を解析するには分子量 16 万を超える膜蛋白質である C_oO との結合部位の同定が必須である。本特別推進研究において設置した超高感度冷却プローブ装着 NMR 装置を駆使することで、この Cyt *c* における C_oO 結合部位を同定することができ、酸素呼吸生物には必須の呼吸鎖末端における酸素の 4 電子還元機構の一端を分子レベルで解明することに成功した。

8) 多次元多核 NMR を用いた蛋白質立体構造形成過程における分子機構の解明

モジュール置換蛋白質では多くの場合、構造が不安定化しており、その構造の安定化が大きな課題であった。本特別推進研究では、主にランダム変異によりその構造の安定化を図ってきたが、その構造安定化の効率は高くなく、蛋白質立体構造形成そのものの分子メカニズムを明らかにすることも重要であることが明らかとなってきた。そこで、蛋白質立体構造の形成過程を経時的に追跡できる NMR における H/D 交換法を利用して、蛋白質立体構造形成過程における構造変化を追跡した。その結果、蛋白質立体構造形成の際には、特定の部位が先行して構造を形成し、それらの部位が核となって周辺の構造が形成されることを示すことができた。

9) 1 分子計測による蛋白質立体構造形成過程の解析

蛋白質立体構造形成の分子機構をさらに詳細に明らかにするためには、一定の立体構造をとらない変性状態から、一定の安定な構造の天然状態までの構造変化を追跡する必要がある。しかし、変性状態の構造は一定ではないため、どのような変性状態の構造からどのような構造変化の経路をたどって天然状態に至るのかについて検討することは困難である。そこで、蛋白質一分子の立体構造形成過程を追跡することで、実際にどのような構造をもつ変性状態から天然状態への構造変化が起こるのかを検討した。このような実験の実現のため、独自の 1 分子測定用時分割蛍光追跡装置を開発し、蛍光剤でラベルした蛋白質一分子の構造変化を、

その蛍光強度変化を観測することでその追跡に成功した。

2. 特別推進研究の研究成果が他の研究者により活用された状況はどうか。

(1) 学界への貢献の状況

研究代表者森島 績 は、平成 17 年 10 月より、科学技術振興機構 戦略的創造研究推進事業 さきがけ（個人型研究）「生命現象と計測分析」領域の領域総括となり、これまで「生命現象と計測分析」領域の 32 名のさきがけ研究代表者に対し、特別推進研究を実施するなかで培った経験や知見をもとに、個々の研究プロジェクトの助言、支援を精力的に行っている。さらに、JST の柳田 CREST のアドヴァイザーも務めたり、他のさきがけ領域との合同研究報告会も実施し、他の研究領域の研究者に対してもアドバイスを積極的に行っている。また、ナノバイオサイエンスの新展開のどの研究集会なども主催している。その他いくつかの学会での特別講演を行ったり、各種評価委員会委員も務めている。

若杉桂輔（研究分担者）は、平成 19 年 11 月 12 日~13 日に韓国ソウル（ソウル大学 Hoam Convention Center）で開催された The 1st international conference on ARS network and signaling.において座長を務めた。この際、特別推進研究での成果も発表し、座長をしたセッションでの議論を活発にさせた。また、平成 17 年 10 月 13 日にギリシャのクレタ島で開催された 10th World Congress on Advances in Oncology and 8th International Symposium on Molecular Medicine、及び、平成 16 年 10 月 16 日の第 77 回 日本生化学会大会 ワークショップ（細胞死と防御機構）においても座長を行い、特別推進研究の成果をもとに学会に対し貢献した。

(2) 論文引用状況

<特別推進研究期間中に発表した被引用回数の多い論文リスト（15 回以上）>

Ngb の生理機能の解明やモジュール置換を駆使した新規蛋白質創出の実験で得られた知見は、種々のレビューやオリジナルペーパーに数多く引用されている。

1. “Oxidized human neuroglobin acts as a heterotrimeric Galpha protein guanine nucleotide dissociation inhibitor”, Wakasugi, K., Nakano, T., and Morishima, I. (2003) *J. Biol. Chem.* **278**, 36505-36512. (Times Cited: 63)
2. “Collapse and Search Dynamics of Apomyoglobin Folding by Submillisecond-resolved CD and SAXS Observations”, Uzawa, T., Kimura, T., Takahashi, S., Ishimori, K., Morishima, M., Akiyama, S., and Fujisawa, T. (2004) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **101**, 1171-1176. (Times Cited: 53)
3. “Human neuroglobin interacts with flotillin-1, a lipid raft microdomain-associated protein”, Wakasugi, K., Nakano, T., Kitatsuji, C., and Morishima, I. (2004) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **318**, 453-460. (Times Cited: 28)
4. “NMR study on the structural changes of cytochrome P450cam upon the complex formation with putidaredoxin: Functional significance of the putidaredoxin-induced structural changes”, Tosha, T., Yoshioka, S., Takahashi, S., Ishimori, K., Shimada, H., and Morishima, I. (2003) *J. Biol. Chem.* **278**, 39809-39821. (Times Cited: 23)
5. “Crystal structure of the cytochrome p450cam mutant that exhibits the same spectral perturbations induced by putidaredoxin binding”, Nagano, S., Tosha, T., Ishimori, K.,

- Morishima, I., and Poulos, T.L. (2004) *J. Biol. Chem.* **279**, 42844-42849. (Times Cited: 22)
6. “Association of human neuroglobin with cystatin C, a cysteine proteinase inhibitor”, Wakasugi, K., Nakano, T., and Morishima, I. (2004) *Biochemistry* (Accelerated Publication) **43**, 5119-5125. (Times Cited: 18)
 7. “L358P mutation on cytochrome P450cam simulates structural changes upon putidaredoxin binding: the structural changes trigger electron transfer to oxy-P450cam from electron donors”, Tosha, T., Yoshioka, S., Ishimori, K., and Morishima, I. (2004) *J. Biol. Chem.* **279**, 42836-42843. (Times Cited: 18)
 8. “Structural diversities of active site in clinical azole bound forms between sterol 14a-demethylases (CYP51) from human and Mycobacterium tuberculosis”, Matsuura, K., Yoshioka, S., Tosha, T., Hori, H., Ishimori, K., Kitagawa, T., Morishima, I., Kagawa, N., and Waterman, M.R. (2005) *J. Biol. Chem.* **280**, 9088-9096. (Times Cited: 17)
 9. “Identification of residues in human neuroglobin crucial for guanine nucleotide dissociation inhibitor activity”, Wakasugi, K., and Morishima, I. (2005) *Biochemistry* **44**, 2943-2948. (Times Cited: 16)
 10. “Possible neuroprotective mechanism of human neuroglobin”, Wakasugi, K., Kitatsuji, C., and Morishima, I. (2005) *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **1053**, 220-230. (Times Cited: 15)

3. その他、効果・効用等の評価に関する情報。

(1) 研究成果の社会への還元状況

最近の生命科学の飛躍的な発展により、ヒトを含む様々な生物種の全遺伝情報（ゲノム）が急速な勢いで明らかにされてきた。今後は生命活動において中心的な役割を担っている「蛋白質」の研究が、創薬や医療に多大な貢献をもたらす分野になると予想される。特に、生命現象の根幹をなすシグナル伝達系を人工的に制御する蛋白質を創製することは人類社会に極めて大きな貢献をするものと期待できる。本プロジェクトを通じ、この際必要となる蛋白質をデザインする方法として、モジュール置換法が極めて有用であることが実証された。実際、ドメインより小さな機能モチーフ（モジュール）の蛋白質への導入例は最近増えつつある。今回、特に、モジュール置換法により、細胞の外から細胞質内に移行し神経細胞を保護する働きを持つ新規蛋白質の創出に成功したことは特筆すべきことである。最近、ヒト Ngb は、酸化ストレス時の神経細胞保護作用に加えて、アルツハイマー病などの神経変性疾患のアミロイド沈着を防ぐ働きを持っていることが明らかになり、このモジュール置換による研究成果は、医薬品開発、創薬の分野に大きな波及効果を生んでいる。

研究代表者の私、森島 績 は、平成 17 年 10 月より、科学技術振興機構 戦略的創造研究推進事業 さきがけ（個人型研究）「生命現象と計測分析」領域の領域総括となり、これまで「生命現象と計測分析」領域の 32 名のさきがけ研究代表者に対し、特別推進研究を実施するなかで培った経験や知見をもとに、個々の研究プロジェクトの助言、支援を精力的に行っている。さらに、他の領域との合同研究報告会も実施し、他の研究領域の研究者に対してもアドバイスを積極的に行っている。

(2) 研究計画に関与した若手研究者の成長状況

若杉 桂輔（研究分担者）は、平成 19 年 10 月より科学技術振興機構 戦略的創造研究推進

事業 さきがけ（個人型研究）「生命現象と計測分析」領域 研究代表者を兼務している。研究課題名は、「蛋白質工学的的手法による細胞内環境の計測」である。特別推進研究の「モジュール」構造に着目した蛋白質工学的的手法をさらに発展させ、「分子進化に着目した蛋白質の新規機能の探索と機能性蛋白質の創製」に挑んでいる。

特別推進研究遂行当時大学院生の秋山修志は、平成 17 年 10 月より科学技術振興機構 戦略的創造研究推進事業 さきがけ（個人型研究）「生命現象と計測分析」領域 研究代表者として、「時間と共に離合集散を繰り返す分子機械のX線小角散乱・動的構造解析」と題する研究を行っている。平成 20 年文部科学大臣表彰 若手科学者賞（題目「X線小角散乱を用いたシグナル感知・伝達・応答機構の研究」）を受賞し、また、平成 19 年には日本生物物理学会若手奨励賞を受賞した。平成 20 年 8 月に名古屋大学大学院理学研究科 講師に就任した。