

1-1-5 研究成果 平成13～15年度

中テーマ名：タンパク質回収フロー型自動NMR測定装置の開発 サブテーマ名：細胞膜・細胞内膜へのタンパク質局在機構の解析	
中テーマリーダー（所属、役職、氏名） 横浜市立大学大学院国際総合科学研究科 教授	西村善文
研究従事者（所属、役職、氏名） (財)木原記念横浜生命科学振興財団	大野綾子
研究の概要、新規性及び目標	
① 研究の概要 膜受容体の機能制御やタンパク質の分解経路において、膜結合タンパク質ドメインとタンパク質相互作用モチーフの両者の協働が重要であることが最近の知見により明らかになった。本研究では、特にタンパク質の細胞内局在を支配するユビキチンの認識機構を解析して、新技術創出のシーズとなることを目指す。	
② 研究の独自性・新規性 従来の創薬が膜受容体そのものまたは下流のシグナル伝達酵素を標的としてきたのに対して、膜受容体の局在を制御する機構を標的とするというコンセプトは非常に新規なものである。	
③ 研究の目標 フェーズⅠでは、膜受容体の運命決定に重要と考えられるユビキチン認識システムの物理化学的性質を調べ、構造解析に適した複合体試料の作成を行う。 フェーズⅡでは、上記で得られた試料を用いて、多角多次元NMR測定またはX線結晶解析による構造解析を行い、原子レベルでの知見を得る。また膜結合タンパク質との協同性についても検討する。 フェーズⅢでは、上記で得られた構造情報をもとに、本コンセプトに基づく創薬や産業利用が可能であるかどうか詳細な検討を行う。	
研究の進め方及び進捗状況 フェーズⅠにおいて、モノユビキチンと相互作用する可能性のあるペプチド数種のNMR解析および相互作用解析を行った。また、ユビキチンと相互作用するマウスVCPおよび酵母Cdc48Pの当該ドメインの ¹⁵ N標識NMR試料の大量調製法を確立した。	
主な成果 具体的な成果内容： Eps15、STAM、HBP、Epsin、Hrsのユビキチン相互作用ペプチド(UIM)とユビキチンの相互作用部位をNMRにより同定した。しかし会合の交換速度が速く、NMRによる複合体構造決定には不適であることが分かった。一方VCP/Cdc48Pは良好なNMRスペクトルを与え、単独では構造解析に向いている試料であることが分かった。 特許件数：0 論文数：1 口頭発表件数：3	
研究成果に関する評価	
1 国内外における水準との対比 UIMの発見そのものが非常に新しい(2001年)ため、本研究の成果は世界的にも最新の知見であると考えられる。	
2 実用化に向けた波及効果 ユビキチンによる膜受容体のendocytosis開始メカニズムは新規創薬ターゲットとして期待される。	

残された課題と対応方針について

膜受容体やE R合成中間体の運命決定を担うユビキチン認識の多くが、単独では比較的弱い相互作用によって支配されている可能性が示された。これは阻害がしやすいという点では長所となる一方で、物理化学的な解析のためには短所となりうる。より強い相互作用をする系を幅広くサーベイする必要がある。

	JST負担分 (千円)							地域負担分 (千円)							合 計
	H 12	H 13	H 14	H 15	H 16	H 17	小計	H 12	H 13	H 14	H 15	H 16	H 17	小計	
人件費	0	3,591	5,668	5,520			14,779	0	0	0	0			0	14,779
設備費	0	5,102	633	266			6,001	0	22,400	0	0			22,400	28,401
その他研究費 (消耗品費、 材料費等)	0	6,080	5,990	3,828			15,898	0	1,560	2,004	1,862			5,426	21,324
旅費	0	411	12	112			535	0	0	0	0			0	535
その他	0	16	10	20			46	0	0	0	0			0	46
小 計	0	15,200	12,313	9,746			37,259	0	23,960	2,004	1,862			27,826	65,085

代表的な設備名と仕様 [既存 (事業開始前) の設備含む]

JST負担による設備 :

地域負担による設備 :

※複数の研究課題に共通した経費については按分する