

1-1-6 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：膜受容体と新規NMR測定技術の開発	
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） 大阪大学蛋白質研究所 教授	阿久津秀雄
研究の概要、新規性及び目標	
① 研究の概要 薬物候補低分子化合物のターゲットの主要なもの一群は膜受容体である。本研究グループはこのような系の解析を目指して、「受容体と新規NMR測定技術の開発」に取り組んでいる。膜受容体を含む系を解析するためには固体NMRが最も有力な方法になると考えられる。固体NMRによるタンパク質の構造決定法は現在開発途上になるので、方法論および技術の開発を合わせて進めていく必要がある。そこで、固体の新規NMR測定技術の開発に主に取り組む。対象としてはGタンパク質共役受容体のモデルペプチドで、ハチ毒の一種であるマストパランX、およびそれと相互作用するGタンパク質を取り上げる。固体NMRは溶液NMRに比べると多量の試料と特別な処理を必要とするので、試料調製も重要な問題である。	
② 研究の独自性・新規性 現在の薬剤開発の主要なターゲットの一つは膜受容体、特にGタンパク質共役受容体である。しかし、膜受容体の構造的な解析法が確立していないために、活性によるランダムスクリーニングが主な手段となっている。固体NMRによる構造解析法を開発することにより、構造的観点からのスクリーニングが可能となる。	
③ 研究の目標 フェーズⅠでは均一標識マストパランXの大量精製と固体NMR基礎技術の開発を行う。 フェーズⅡではマストパランXとGタンパク質の相互作用解析技術の開発を行う。 フェーズⅢでは膜受容体・リガンドの相互作用解析への応用を行う。	
研究の進め方及び進捗状況 安定同位体均一標識マストパランXをユビキチンとの融合タンパク質として大腸菌で発現させ、これを切り出して精製する。さらに、これをアミド化して目的物を得る。この方法により、固体NMRに使える程度に大量合成できるようになった。固体NMR技術としては2次元および3次元高分解能NMR測定の基礎技術の開発をかなりの程度進めることができた。これを基に、 ^{13}C 、 ^{15}N 均一標識マストパランX-G 1 yのほとんどのシグナルの帰属を行うことができた。この化学シフトを基に上記ペプチドの2次構造解析をも行った。	
主な成果 具体的な成果内容： 固体NMR技術としては2次元および3次元高分解能NMR測定の基礎技術の開発をかなりの程度進めることができた。これを基に、 ^{13}C 、 ^{15}N 均一標識マストパランX-G 1 yのほとんどのシグナルの帰属を行うことができた。この化学シフトを基に上記ペプチドの2次構造解析をも行った。	
特許件数：0 論文数：12 口頭発表件数：13	
研究成果に関する評価	
1 国内外における水準との対比 国内においてはこのような観点からの研究をほとんど行われておらず、独走状態である。世界的はいくつかの研究室が同じような問題意識で固体NMRの方法論の開発に取り組んでいる。しかし、その対象は現在はアミロイドタンパク質で、受容体関係はまだあまり取り上げられていない。配向膜を使った系の固体NMRによる構造解析は先行して進んでいるが、この場合は試料を廃棄させなければならないという試料調製上の制約が加わり、現在の目的には適さない。本グループは世界的にも第一線におり、今年の第20回生体系磁気共鳴国際会議の固体NMRのセッションで招待講演を行った。	

2 実用化に向けた波及効果
 まだ実用化には結びついていない。

残された課題と対応方針について

リン脂質膜に結合した状態でのマストパランXの構造解析を進めるとともに、マストパランXとGタンパク質の相互作用解析の方法論の開発を進める必要がある。

	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	0	0	0			0	0	3,750	2,500	2,500			8,750	8,750
設備費	0	0	0	0			0	0	22,400	0	0			22,400	22,400
その他研究費 (消耗品費、 材料費等)	0	9,350	6,500	6,000			21,850	0	1,560	2,005	1,862			5,427	27,277
旅費	0	0	0	0			0	0	0	0	0			0	0
その他	0	0	0	0			0	0	0	0	0			0	0
小 計	0	9,350	6,500	6,000			21,850	0	27,710	4,505	4,362			36,577	58,427

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