

「たんぱく質の構造・機能と発現メカニズム」

平成 13 年度採択研究代表者

箱嶋 敏雄

(奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科 教授)

「タンパク質の動的複合体形成による機能制御の構造的基盤」

1. 研究実施の概要

タンパク質は他の分子との相互作用を通して様々に構造変化して、分子機能の発現と制御を実現しています。本研究では、複数の分子と相互作用する多機能性タンパク質の分子複合体の X 線構造解析を通して、分子認識と、その結果起こる構造変化を通じた分子機能制御の構造的基盤を明らかにします。これにより、細胞機能の制御ネットワークにおけるシグナルの分岐や統合の分子の基礎を理解するとともに、創薬の糸口を探ります。

本年度は、4ヶ月と期間も短いので、DNA 操作・タンパク質化学・高次構造解析の研究体制づくりを主眼として、予備実験を中心に研究を実施した。

2. 研究実施体制

奈良先端科学技術大学院大学グループ

① 箱嶋敏雄(奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科、教授)

② ERM タンパク質の結合実験及び関連タンパク質調整の予備実験

②-1 The radixin FERM / RhoGDI1 complex: 構造に基づいて議論した RhoGDI 活性の阻害機構等を吟味するために、構造から示唆される相互作用残基の変異を導入した RhoGDI の調製を開始した。

②-2 The radixin FERM / ICAM-2 complex: 構造から示唆されるペプチド結合 (Mode-1) の特異的性決定残基の寄与を定量的に解析して(変異ペプチドを合成、表面プラズモン共鳴の測定)、認識モチーフ RxxTYxVxxA を決定した。

②-3 The radixin FERM / NHERF complex: Radixin の標的タンパク質であるイオンチャネル NHE3 の制御因子 NHERF1,2 については、結合部位領域を同定して、NHERF1 複合体については解析可能な質の X 線強度データ収集に成功した。

②-4 NHE: Radixin の標的タンパク質であるが、結合部位が絞り込まれていないイオンチャネル NHE1 についても、結合部位の同定を試みている。

②-5 ERM タンパク質の類似タンパク質: merlin (神経芽腫症 II 型の病因である癌抑制遺伝子産物) の FERM ドメインを構造決定して、接着分子結合に関しては radixin と同様の特異性をもつことを示した。また、病因変異を構造上にマッピングしてそれぞれの構造的要因を示

して、論文発表した。

③ その他の材料の準備

③-1 Rho、Rho-kinase 関連タンパク質: また、Rho-kinase と臨床応用されている特異的阻害剤との複合体の結晶化を開始した。

③-2 その他の接着分子: ギャップ結合タンパク質 connexin43 の細胞内ドメインのタンパク質発現を検討した。