

事後評価報告書

研究課題名：生物における情報変換機構の固体 NMR によるナノスケール解析

研究代表者名：

2-1. 日本側研究代表者：

阿久津 秀雄（大阪大学 蛋白質研究所 招聘教授）

2-2. 英国側研究代表者：

Anthony Watts（オックスフォード大学 生化学部 教授）

総合評価：（優）

3. 研究交流実施内容及び成果

本研究交流では、膜蛋白質を対象として様々な手法を用いた研究で優れた業績を上げてきた英国側研究者と固体高分解能 NMR 方法論の開発において世界の最前線にある日本側研究者の技術を融合することにより、固体 NMR による膜蛋白質ナノマシーン解析の道を切り開くことを目的とする。

平成 17 年度は本格的な研究交流が始まり、それぞれの研究も進み始めた。¹³C, ¹⁵N 完全標識 MPX を調製するとともに、二つの核のみを選択標識した MPX を 5 種類、化学合成し、¹³C, ¹⁵N 完全標識 MPX の多次元高分解能固体 NMR スペクトルを測定した結果、膜結合 MPX はヘリックス構造をとっていたことを明らかにした。

平成 17 年度は日本側研究チームから 2 回の訪英、英国側研究チームからも 2 回の訪日があり、研究員レベルでの交流が進められた。その結果、日本側研究チームは、膜試料の作製と試料ロータへの充填と状態の維持で英国側研究チームから多くを学んだ。英国側研究チームは GPCR であるニューロテンシン受容体の発現に取り組むとともに、そのリガンド、ニューロテンシンの大量合成に成功した。

平成 17 年 11 月 7 日、8 日には大阪で「Assembly and Reconstitution of Membrane Proteins and Cellular Molecular Machineries」という国際シンポジウムを開催した。

平成 18 年度はそれぞれの研究が進むとともに共同研究も始まった。英国側研究チームは大阪に一度、東京のバイオナノワークショップに一度来日し、日本側研究チームからはオックスフォードを 2 回訪れた。

日本側研究チームは GPCR 活性化ペプチド、MPX の G タンパク質活性化機構を知るために、ペプチドのプロトンから脂質の重水素およびリンへの磁化移動を観測する測定法を開発して、脂質膜と MPX ヘリックスの相互作用構造を明らかにすることに成功した。この構造では G プロテインの活性化に重要な 3 つのリジン残基が同タンパク質と相互作用しやすいように膜と反対側を向いていた。この結果を第 2 回日英交流ワークショップで報告し、英国の計算科学のグループが興味を示すこととなった。

英国側研究チームにおいてもニューロテンシン (NT) 受容体の発現が進み、リガンド情報を細胞内に伝える機構の解析が行われた。リガンドである NT の構造解析に日英共同で取

り組むため英国側研究チームから日本側研究チームに試料が送付され、受容体によるリガンドの認識機構を調べるためにリガンド結合構造が報告されている脳下垂体アデニル酸シクラーゼ活性化ペプチド (PACAP) の膜結合構造の解析に平行して取り組んだ。

平成 19 年度には情報変換機構の全容が見えるようになった。リガンド部分については NT の構造解析はまだ成功していないが、英国側研究チームでは受容体結合の解析が始まっている。

日本側研究チームは PACAP の脂質膜結合構造の解析に成功し、予想と異なり β ストランド構造を取ることを明らかにした。受容体結合構造は α ヘリックスであるので、リガンドが膜の上を動いて受容体に認識されるという機構は考えにくいことが分かった。

リガンド情報の細胞内への伝達には GPCR でも受容体のオリゴマー化が関係している可能性が英国側研究チームの実験により示唆された。

日本側研究チームは MPX の G タンパク質結合構造の決定に成功し、膜結合構造に近い α ヘリックスを取ることを明らかにした。したがって、GPCR の G タンパク質活性化ループは膜と結合して α ヘリックスを形成し、G タンパク質活性化を効率的に進めており、リガンド情報はこのような構造変化の誘起に使われているものと日本側研究チームは考えている。この結果は受容体におけるシグナル伝達解析にも貢献するものである。

研究成果の今後期待される効果であるが、膜が絡んだ分子システムの構造解析は非常に困難であるが、本研究はそのような困難を克服する一つの道を切り開いたといえる。固体 NMR において多次元化による分解能の向上、選択標識の利用を組み合わせることにより、膜ペプチド、タンパク質の解析法を確立した。この方法は本研究で採り上げた GPCR ばかりでなく、広く膜タンパク質に用いることができるものでそのインパクトは大きい。

さらに、G タンパク質共役受容体のリガンド認識から G タンパク質活性化機構までを研究できる方法論を確立したことは今後の GPCR 研究の道を切り開くものである。さらに、本研究交流の中で育った固体 NMR における動的核分極の研究は固体 NMR の感度を二桁は上げる可能性のあるものである。これについては日本でも、英国でもこのためのプロジェクトが開始され、本研究交流の研究メンバーが重要な役割を果たしている。

4. 事後評価結果

4-1. 総合評価

本研究は、固体 NMR 研究の第 1 人者の研究グループ (大阪大学阿久津グループ) と膜タンパク質研究の第 1 人者の研究グループ (オックスフォード大学 Watts グループ) との研究交流事業による「固体高分解能 NMR 法による膜タンパク質ナノスケール解析」の開拓を最終目標としている。それに向けた膜受容体試料の測定と、問題点のあぶり出しによって、本事業規模の範囲内で十分な成果があったと認められる。方法論の開発が主眼なので、目に見える形での具体的な成果は出にくいものの、質の高い解析結果が今後期待できる。そのことは、本研究期間中に、GPCR の G タンパク質活性化ループが膜と結合して α ヘリックスを形成することにより効率的に G タンパク質を活性化していることが固体 NMR により解明されたことから強く示唆される。またこの共同研究を通じて動的核分極研究の重要性について当研究課題参加者全てに強く認識されるようになったことも重要な成果の一つで

ある。

4-2. 研究交流の有効性

本研究課題は多次元固体高分解能 NMR 方法論の開発で世界最先端にある阪大阿久津グループと、固体 NMR を含む様々な方法によって膜タンパク質の研究を推進しているオックスフォード大 Watts グループとの研究交流によって固体 NMR 法により、GPCR を中心とした情報変換システムの作動機構をナノスケールで解明することを目標としている。本研究によって得られた最も重要な成果は、GPCR のモデルペプチドであるマストラパン X (MPX) の膜結合及び G タンパク質結合構造の決定に成功し両者とも α ヘリックス構造をとっていることを明らかにしたことである。また、膜結合構造では G タンパク質活性化に必須のリジン残基が膜の外を向いていた。これらの結果は GPCR の G タンパク質活性化ループは膜と結合して α ヘリックスを形成し、G タンパク質活性化を効率的に進めていることを示している。このような立体構造解析にもとづく G タンパク質活性化機構の解明は基礎から応用分野までの広い分野にわたって大きなインパクトを与えることは間違いない。また、多次元固体 NMR 法による膜タンパク質の解析法が確立されたことは正に「画期的な科学技術の進展」と言える。また本研究によって進められた動的核分極の研究は固体 NMR の感度を飛躍的に向上させる可能性のあるものであり、これが実現すれば確実に新分野の開拓が実現する。この重要性はわが国でも英国でもこの共同研究が端緒となって認識されるようになり、両国で国家プロジェクトとして取り上げられるに至っている。また、固体高分解能 NMR による情報変換系の研究、特に結晶解析では解明が極めて困難な、G タンパク質活性化機構の研究方法が確立されたことも本研究の重要な成果の一つである。

この共同研究に両研究グループの若手研究者や大学院生が二国間相互に交流を深めながら参画し上述のような重要な成果をあげることに貢献した。このような経験は国際的な研究者の育成に不可欠であろう。さらに両研究グループの若手研究者の多くが上述の動的核分極プロジェクトに参加しており、さらに交流を深めながらより一層成長していくことが期待される。本二国間共同研究が端緒となってこのようなまたとない人材育成機会がもたらされたと言えよう。

相手国へは毎年各 2 回計 6 回訪問し原則として共同セミナーを行い双方の研究の進捗状況を連絡すると共に異なる分野での動きについて情報が交換された。また阪大グループは試料調製について多くのことを学び、オックスフォード大は NMR 測定技術を伝授された。このようにして若手研究者レベルの有効かつ緊密な交流がこの事業を端緒として開始された。さらに上述の動的核分極プロジェクトにより現在国家的研究交流が進められている。このようにして、このような持続的研究交流に発展している。

4-3. 当初目標の達成度

この共同研究においては、一方が他方の得意分野の知識技術をそれぞれの研究に活用することによって、各研究グループ独自に研究が進められた。そのために研究員か教員が毎年各 2 回計 6 回派遣されて 1 週間程度滞在した。このような研究交流実施体制は誠に適切であったことは実績が示している。

交流は当初計画通りに行われた。相互派遣回数（毎年各 2 回計 6 回）はそれほど頻繁ではないが、研究員や教員が派遣されたため研究交流は効率よく推進された。この研究課題独自のワークショップは一度も開催されていないが、原則として相互派遣の際に行われた

共同セミナーにより情報交換が緊密に行われた。また都合 6 回の国際学会に参加し情報発信も十分に行われた。