

「医療に向けた自己組織化等の分子配列制御による機能性材料・システムの創成」
平成 14 年度採択研究代表者

林崎 良英

(理化学研究所・主任研究員)

「ゲノムレベルの生体分子相互作用探索と医療に向けたナノレゴ開発」

1. 研究実施の概要

生命が40億年の歳月をかけて創り出してきた特異的に相互作用する生体内タンパク質を「結合素子(ナノレゴ素子)」という概念で捕らえ、複数個のナノレゴ素子から人工融合タンパク(ナノレゴ)を設計・作製し、制御可能な秩序ある自己組織化能力をもった新しい機能性材料を開発する。この目的を達成するための基盤整備として、新規解析技術の開発、有用なナノレゴ素子候補を得るためのスクリーニング、ナノレゴ素子候補の物性解析を行ってきた。平成 17 年度はナノレゴ作成のための基盤実験を通じて、新規構造体を創出する戦略として結合素子、骨格素子からなるナノレゴの新規概念を得た(特許出願済)。この概念に基づき、PDZ-PDZpeptide ペアを接着因子として、また、4 量体タンパク質 SOR を骨格素子としたナノレゴ(SOR fusion ナノレゴ)を作成して混ぜ合わせたところ、白濁形成が認められた。白濁は PDZ-SOR と PDZpeptide-SOR が 1:1 の比率で生じていることが明らかとなった。さらに、透過型電子顕微鏡を用い、SOR fusion ナノレゴ集合体の基本結合構造が線形の鎖状構造であることを明らかとなり、作成したナノレゴを用いて自己組織化により新規線状構造体の創出に初めて成功した。今後は完全制御可能な高度なナノレゴの開発を目指してゆく。

2. 研究実施内容

研究目的: 特異的相互作用するタンパク質(ナノレゴ素子)から人工融合タンパク(ナノレゴ)を設計・作製し、制御可能な秩序ある自己組織化能力をもった新しい機能性材料を開発する。

方法: これまでの基盤実験によりナノレゴ素子として有用と考えられた PDZ-PDZpeptide のペアを用いたナノレゴを設計し、発現精製した。得られたナノレゴを混合したところ白濁形成が認められたため、その物性についてマクロレベルでの解析を行い、さらに透過型電子顕微鏡を用いて形成物を観察した。

研究成果

1)ナノレゴの新規概念の創出

ナノレゴを用いて新規構造体を創出する戦略として、結合素子、骨格素子からなるナノレゴの新規

概念を得て、特許出願した。また、ナノレゴ作成に当たりコンピュータシミュレーションを導入した。

2) ナノレゴを用いた新規構造体の創出

上記概念に基づいて PDZ-PDZpeptide ペアを接着因子として、また、4 量体タンパク質 SOR を骨格素子としたナノレゴ (SOR fusion ナノレゴ) を作成して混ぜ合わせたところ、白濁形成が認められた。白濁は PDZ-SOR と PDZpeptide-SOR が 1:1 の比率で生じていることが明らかとなった。また、塩濃度により接着素子間の結合親和性をコントロールすることが可能であることが明らかとなった。

3) SOR fusion ナノレゴ集合体の基本結合構造と、階層的集合体形成過程の観察

透過型電子顕微鏡を用い、SOR fusion ナノレゴ集合体の基本結合構造が線形の鎖状構造であることを明らかにするとともに、超微弱光検出蛍光顕微鏡と AFM のカップリングシステムを用いてナノレゴの集合体の階層的形成過程 (線状基本構造→粒状集合体→不定形凝集体) を確認した。

4) 超好熱菌 (パイロコッカス) DNA ブックの作成

単細胞生物の遺伝子を収載した最初の DNA ブックとして、パイロコッカスの 1,702 個の遺伝子 (全遺伝子の 82.6%) を収載した DNA ブックを作成した。さらに、DNA ブック用のデータベースを作成した (<http://genome.gsc.riken.jp/DNA-Book/Pyrococcus/>)。

5) その他

- ・パイロコッカスにおける世界初のタンパク質相互作用の系統的解析を行い論文発表した。
- ・自己組織化分子集合体としての SMN 複合体の解析を行い、新規の相互作用を発見した。
- ・ナノレゴ素子 PDZ および PDZpeptide 間相互作用力の 1 分子測定を行い、他の測定法では検出困難な二段階の解離速度過程が含まれることを発見した。
- ・ナノレゴを用いた自己組織化ゲル (プロトタイプ) の作成に成功した。

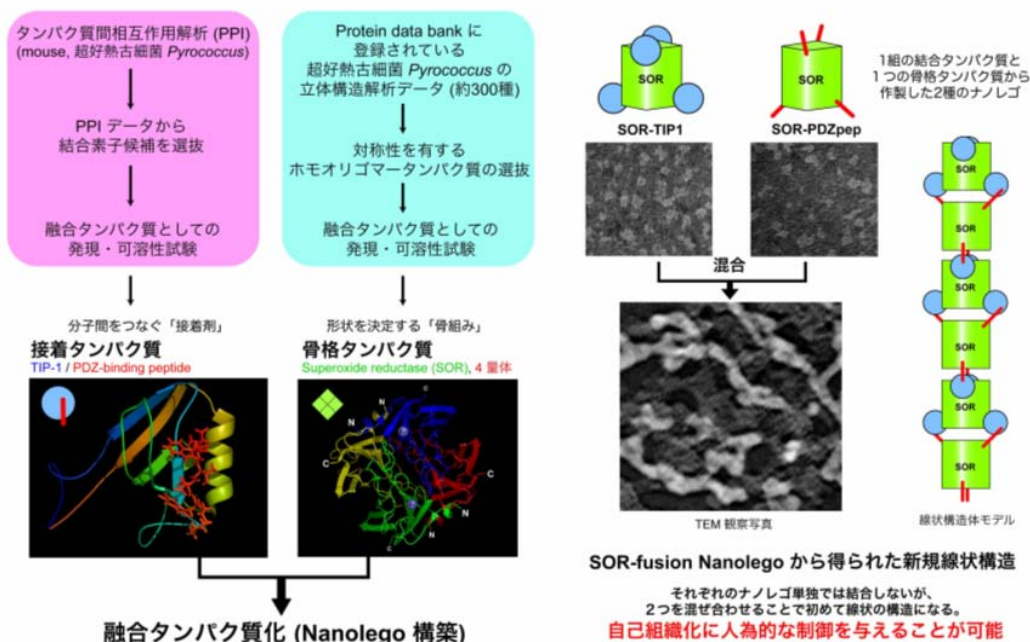


図 ナノレゴを用いた新規線状構造体の創製

3. 研究実施体制

「理化学研究所」グループ

- ①研究分担グループ長：林崎 良英（理化学研究所、主任研究員）
- ②研究項目：「相互作用をもつタンパク質の探索とナノレゴタンパク質の作製」

「九州大学大学院 医学研究院」グループ

- ①研究分担グループ長：松田 武久（九州大学、教授）
- ②研究項目：「ナノレゴタンパク質の物性解析およびナノ秩序アーキテクチャーの構築」

「株式会社 ダナフォーム」グループ・・・平成18年3月で共同研究終了

- ①研究分担グループ長：林 利藏（株ダナフォーム、会長）
- ②研究項目：「ナノレゴタンパク質の発現と精製」

4. 主な研究成果の発表（論文発表および特許出願）

（1）論文（原著論文）発表

- Alimjan Idiris, S. Kidoaki, K. Usui, T. Maki, H. Suzuki, M. Ito, M. Aoki, Y. Hayashizaki, T. Matsuda. Force measurement on antigen-antibody interaction by atomic force microscopy using photograft-polymer spacer, *Biomacromolecules*, 6, 2776-2784, 2005.
- AKengo Usui, Shintaro Katayama, Mutsumi Kanamori-Katayama, Chihiro Ogawa, Chikatoshi Kai, Makiko Okada, Jun Kawai, Takahiro Arakawa, Piero Carninci, Masayoshi Itoh, Koji Takio, Masashi Miyano, Satoru Kidoaki, Takehisa Matsuda, Yoshihide Hayashizaki, Harukazu Suzuki, Protein-protein interactions of the hyperthermophilic archaeon *Pyrococcus horikoshii* OT3, *Genome Biology*, 6, R98 (2005)

（2）特許出願

H17 年度出願件数：1 件（CREST 研究期間累積件数：2 件）