

薬品機能解析学

教授：松崎 勝巳 准教授：星野 大 講師：矢野 義明



研究概要

生体膜は受容体やイオンチャンネルなどの機能性タンパク質と多種の脂質からなり、これに糖鎖修飾が加わった、いわば「超分子複合体」で、これらが動的に相互作用しあって様々な機能を実現しています。したがって、生体膜の構造と機能を解明するには、タンパク質と脂質との相互作用を理解することが不可欠です。具体的には以下のようなテーマについて研究を行っています。

1) 抗菌性ペプチドの作用機構の解明と創薬への展開：抗菌性ペプチドの産生が、ヒトを含むあらゆる生物に共通の先天性免疫機構であることが、この20年間の研究で明らかとなっています。我々はアフリカツメガエル由来のマガイニン2、カプトガニ由来のタキプレシン1などの抗菌性ペプチドの作用機構の解明に早くから着手しました。これらのペプチドが細菌選択的に結合し、細胞膜に「ペプチド-脂質超分子複合体ポア」という孔をあけて、細胞内容物（イオンなど）を漏出させると同時に、膜脂質内外の非対称性を消失させ、さらにペプチド自身が細胞内に侵入することを世界にさきがけて明らかにしてきました。現在、創薬に向けてハイブリッドペプチドや高分子修飾ペプチドの創製を進めています。

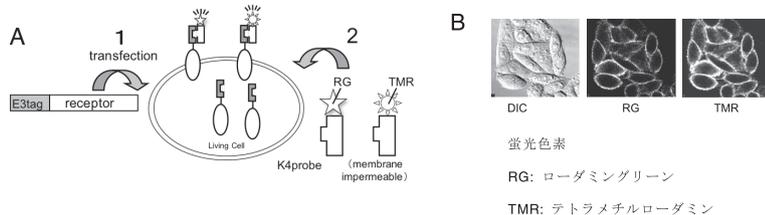
2) アルツハイマー病発症機構の解明と予防・治療法の開発：アルツハイマー病の病理学的特徴の一つにアミロイドβ蛋白質(Aβ)の凝集・沈着があり、本来可溶性のAβが凝集・不溶化し神経細胞毒性を発現することが発症に重要だと考えられていますが、凝集のメカニズムに関してはいまだ明らかではありません。一方、脳に沈着したAβは、神経細胞中に豊富に存在するスフィンゴ糖脂質であるGM1ガングリオシド(GM1)と結合していることが明らかにされており、アルツハイマー病発症機構の解明の手がかりとして非常に重要であると考えられます。我々は神経細胞中に豊富に存在するスフィンゴ糖脂質であるGM1ガングリオシド(GM1)が生体膜中でスフィンゴミエリン、コレステロールなど共に脂質ラフトと呼ばれるマイクロドメインを形成していることに着目し、脂質ラフトの組成変化がGM1のAβとの結合およびAβの凝集に関与することを明らかにしてきました。また、生細胞に対してAβがどのような挙動を示

すのかを可視化することにも成功しています。

3) 膜タンパク質の構造形成原理の解明：受容体などの膜タンパク質の構造形成原理は水溶性タンパク質のそれと大きく異なると考えられていますが、難溶性である膜タンパク質の単離や精製は一般に難しく研究が遅れています。我々は、多くの膜タンパク質の最小構成単位である膜貫通ヘリックス構造を持つモデルペプチドを用いて、膜タンパク質フォールディング一般に適用可能な、膜環境でのヘリックス-脂質間、ヘリックス-ヘリックス間相互作用に寄与する力（ファンデルワールスカ、水素結合、イオン結合など）の熱力学量を測定できるユニークな実験系を構築しています。

4) Gタンパク質共役型受容体の機能制御法の開発：創薬の大きなターゲットであるGPCRの生細胞中での機能を解析・制御する手法の開発を行っています。現在汎用されている蛍光タンパク質を用いた標識法の欠点を補う新手法として、任意の蛍光色素を生細胞膜の特定のGPCR特異的だけに迅速に標識できる「コイルドコイルタグプローブラベル法」(下図)を開発し、GPCRの活性化に伴う内在化を高感度・簡便に検出することを可能にしました。この技術を駆使して、複雑で不明な点の多いGPCRの生体膜での挙動の解明・制御を目指した研究を行っています。

5) NMRによる蛋白質の動的立体構造解析：溶液高分解能NMRは、水溶液中での蛋白質や核酸などの生体高分子の立体構造を精度良く決定するための唯一の手法として、今日の構造生物学において重要な役割を果たしています。また、蛋白質のフォールディング反応や、リガンドの結合に伴う立体構造変化をアミノ酸残基ごとに追跡する手法として用いられています。このような高い分解能を誇る溶液高分解能NMRを用いて、水溶性蛋白質やモデルペプチドのフォールディング反応を詳細に解析しようと試みています。また、自己会合性が高いために溶液NMRによる解析ができないような蛋白質についても、測定・解析を可能にする新規の手法の開発も試みています。



コイルドコイルラベル法

(A) ラベル原理 (B) E3タグ-β2アドレナリン受容体発現細胞にRG-K4およびTMR-K4プローブ(各10nM)を混合投与5分後の共焦点顕微鏡像。

蛍光色素

RG: ローダミングリーン

TMR: テトラメチルローダミン

主要論文

- Ito et al. Not oligomers but amyloids are cytotoxic in the membrane-mediated amyloidogenesis by amyloid-β peptide. *ChemBioChem* **19**, 430 (2018)
- Nakamura et al. High performance plasma amyloid-β biomarkers for Alzheimer's disease. *Nature* **554**, 249 (2018)
- Yano et al. GXXXG-mediated parallel and antiparallel dimerization of transmembrane helices and its inhibition by cholesterol: Single-pair FRET and 2D IR studies. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **56**, 1756 (2017)