

**先端研究助成基金助成金(最先端・次世代研究開発支援プログラム)
実施状況報告書(平成 23 年度)**

本様式の内容は一般に公表されます

研究課題名	多剤耐性化の克服を目指した薬剤排出トランスポーターの構造機能解析
研究機関・ 部局・職名	東京工業大学・生命理工学研究科・教授
氏名	村上 聡

1. 当該年度の研究目的

化学療法に立脚する現代医学の脅威である薬剤耐性化問題の主因の1つである多剤排出トランスポーターの構造機能解析を通してその機能阻害の糸口を探すことを目的に、23年度は既に結晶が得られているホモログや構造未知の ABC トランスポーターの結晶化および構造解析を進めることを目的とした。また化合物ライブラリーからの阻害剤候補について、細菌の増殖を指標にした薬効のアッセイ系立ち上げと、熱測定で、それらの結合の熱力学パラメーターを求める手法の確立を目指した。さらにその化合物と、共結晶化を進め、複合体構造の取得へむけた準備を行うことも考えた。結晶化については当該年度に脂質キュービック相結晶化法を微量の標品で行えるようにし、高効率で膜タンパク質結晶を得るための技術を確認することを目的とした。

2. 研究の実施状況

多剤排出トランスポーターの構造解析については、既に結晶が得られているホモログについて放射光実験を行い、初期的な回折データの取得に成功した。既に得られている大腸菌 AcrB との詳細な構造比較の為に解像度が十分であるとは言えず、結晶性のさらなる改良と回折実験を続ける。

新規トランスポーターの結晶化については、ある種の脂質を精製の段階で加えることで、安定性向上や結晶化に有利に働くことを目指し、微結晶を得ることに成功した。今後その大型化と回折実験を進める。

阻害剤候補化合物の探索については、細菌の増殖速度を 96 穴マイクロプレートを用いてハイスループットにバイオアッセイして、スクリーニングする手法を開発した。(株)ファルマデザインとの共同研究にてリガンドベース・ドラッグデザインを行い、その結果として選定された候補化合物約 700 種類を、東京大学薬学部の化合物ライブラリーより提供をうけ、それらのスクリーニングを行った。その結果幾らかの、新規阻害剤候補となるファーマコフォアを見いだすに至った。今後、二次スクリーニングを進めると共に、共結晶化も行う予定である。それを含め、結晶化については脂質キュービック相結晶化法や、バイセル結晶化法など、高効率で膜タンパク質結晶を得るための技術を確認し、微量標品からの脂質支援結晶化スクリーニングを可能にした。また、結晶化をゲル中で行う手法などの開発も行った。

所属する東工大では、研究支援管理室及び社会人教育院を中心とし、「国民との科学・技術対話」のためのシンポジウムを開催した。一般市民や高校生など多数の参加者に本研究の意義や研究成果について説明し、質疑応答の機会をもった。

3. 研究発表等

<p>雑誌論文</p> <p>計 10 件</p>	<p>(掲載済み一査読有り) 計9件</p> <p>Shigeru Sugiyama, Mihoko Maruyama, Gen Sazaki, Mika Hirose, Hiroaki Adachi, Kazufumi Takano, Satoshi Murakami, Tsuyoshi Inoue, Yusuke Mori, and Hiroyoshi Matsumura Growth of protein crystals in hydrogels prevents osmotic shock <i>J. Am. Chem. Soc.</i> 2012, 134, 5786–5789.</p> <p>Hongyu Xiang, Mayumi Niiyama, Shigeru Sugiyama, Hiroaki Adachi, Kazufumi Takano, Satoshi Murakami, Tsuyoshi Inoue, Yusuke Mori, Masayuki Ishikawa, Hiroyoshi Matsumura and Etsuko Katoh Crystallization and preliminary X-ray crystallographic analysis of a helicase-like domain from a tomato mosaic virus replication protein <i>Acta Cryst.</i> 2011, F67(12), 1649–1652.</p> <p>吉川洋史、村井良多、杉山成、安達宏昭、松村浩由、井上豪、村上聡、高野和文、森勇介 フェムト秒レーザー誘起キャビテーションバブルによるタンパク質の結晶核発生 日本結晶成長学会誌 2011, 38, 161–168.</p> <p>Ryota Murai, Hiroshi Y. Yoshikawa, Hitoshi Hasenaka, Yoshinori Takahashi, Mihoko Maruyama, Shigeru Sugiyama, Hiroaki Adachi, Kazufumi Takano, Hiroyoshi Matsumura, Satoshi Murakami, Tsuyoshi Inoue and Yusuke Mori Influence of energy and wavelength on femtosecond laser-induced nucleation of protein <i>Chemical Physics Letters</i> 2011, 510, 139–142.</p> <p>Hiroyoshi Matsumura, Keisuke Kakinouchi, Tsutomu Nakamura, Shigeru Sugiyama, Mihoko Maruyama, Hiroaki Adachi, Kazufumi Takano, Satoshi Murakami, Tsuyoshi Inoue and Yusuke Mori Growth of Protein Crystals by Syringe-Type Top-Seeded Solution Growth <i>Cryst. Growth Des.</i> 2011, 11, 1486–1492.</p> <p>Natsuko Iefuji, Ryota Murai, Mihoko Maruyama, Yoshinori Takahashi, Shigeru Sugiyama, Hiroaki Adachi, Hiroyoshi Matsumura, Satoshi Murakami, Tsuyoshi Inoue, Yusuke Mori, Yuichi Koga, Kazufumi Takano and Shigenori Kanaya Laser-induced nucleation in protein crystallization: Local increase in protein concentration induced by femtosecond laser irradiation <i>J. Cryst. Growth</i> 2011, 318, 741–744.</p> <p>松村浩由、杉山成、安達宏昭、高野和文、村上聡、井上豪、森勇介 結晶成長の新技術 バイオインダストリー 2011, 28, 30–36</p> <p>Shigeru Sugiyama, Mika Hirose, Noriko Shimizu, Mayumi Niiyama, Mihoko Maruyama, Gen Sazaki, Ryota Murai, Hiroaki Adachi, Kazufumi Takano, Satoshi Murakami, Tsuyoshi Inoue, Yusuke Mori and Hiroyoshi Matsumura Effect of Evaporation on Protein Crystals Grown in Semi-Solid Agarose Hydrogel <i>Jpn. J. Appl. Phys.</i> 2011,50, 025502–4</p> <p>Hiroyoshi Matsumura, Shigeru Sugiyama, Mika Hirose, Keisuke Kakinouchi, Mihoko Maruyama, Ryota Murai, Hiroaki Adachi, Kazufumi Takano, Satoshi Murakami, Yusuke Mori and Tsuyoshi Inoue Approach for growth of high-quality and large protein crystals <i>J. Synchrotron Rad.</i> 2011, 18, 16–19.</p>
---------------------------	---

様式19 別紙1

	<p>(掲載済み一査読無し) 計1件</p> <p>村上 聡 トランスポートソーム 生体膜輸送機構の全体像に迫る 基礎、臨床、創薬応用研究の最新成果 <i>遺伝子医学 MOOK</i> 2011, 19 57-63.</p> <p>(未掲載) 計0件</p>
<p>会議発表</p> <p>計11件</p>	<p>専門家向け 計10件</p> <p>5th International Symposium on Recent Trends in Macromolecular Structure and Function, Satoshi Murakami, Structure and Dynamics of the Drug Efflux Transporter, AcrB, 23-25 January, 2012, Centre of Advanced Study in Crystallography & Biophysics, University of Madras</p> <p>第39回構造活性相関シンポジウム, 村上 聡, 多剤排出トランスポーターの結晶構造に基づく動的構造機能解析, 野田(千葉), 2011年11月28日-29日, 日本薬学会構造活性相関部会</p> <p>第41回結晶成長国内会議, 丸山 美帆子, 村上 聡, 中村 真利子, 斎藤 諭, 高橋 義典, 吉川 洋史, 吉村 政志, 杉山 成, 安達 宏昭, 高野 和文, 松村 浩由, 井上 豪, 森 勇介, 溶液攪拌によるタンパク質結晶品質向上メカニズムの解明, つくば(茨城), 2011年11月3日-5日, 日本結晶成長学会</p> <p>第41回結晶成長国内会議, 青木 裕介, 丸山 美帆子, 高橋 義典, 吉村 政志, 吉川 洋史, 杉山 成, 安達 宏昭, 高野 和文, 村上 聡, 松村 浩由, 井上 豪, 森 勇介, 固相ゲルと溶液攪拌を用いた新規高品質タンパク質結晶育成技術の開発, つくば(茨城), 2011年11月3日-5日, 日本結晶成長学会</p> <p>第41回結晶成長国内会議, 倉田 将輝, 中山 智詞, 吉川 洋史, 丸山 美帆子, 村井 良多, 高橋 義典, 杉山 成, 安達 宏昭, 高野 和文, 村上 聡, 井上 豪, 松村 浩由, 吉村 政志, 森 勇介, フェムト秒レーザー誘起タンパク質結晶核発生技術の高度化, つくば(茨城), 2011年11月3日-5日, 日本結晶成長学会</p> <p>XXII Congress and General Assembly of the International Union of Crystallography, Mihoko Maruyama, Kosuke Murakami, Yoshinori Takahashi, Mamoru Imada, Masashi Yoshimura, Satoshi Murakami, Yusuke Mori, Improvement of crystal qualities by solution stirring techniques, Madrid (Spain), 22-30 August, 2011, International Union of Crystallography</p> <p>XXII Congress and General Assembly of the International Union of Crystallography, Ryo Yonehara, Eiki Yamashita, Kenichi Harada, Naoki Sato, Takanori Matsuura, Satoshi Murakami, Taiji Nakae, Atsushi Nakagawa, Crystal structure analysis of multidrug transporter MexB, Madrid (Spain), 22-30 August, 2011, International Union of Crystallography</p> <p>Gordon Research Conference on Multi-drug Efflux systems, Satoshi Murakami, Functionally rotating mechanism of a multidrug efflux transporter studied by coarse-grained simulation, Les Diablerets (Switzerland), 12-17, June, 2011, GRC(Gordon Research Conference)</p> <p>第11回日本蛋白質科学会年会, 村上 聡, 膜蛋白質の可溶化と精製, 吹田(大阪), 2011年6月7日-9日, 日本蛋白質科学会</p> <p>第11回日本蛋白質科学会年会, 米原 涼, 山下 栄樹, 原田 健一, 佐藤 尚紀, 松浦 孝範, 村上 聡, 中江 太治, 中川 敦史, 緑膿菌由来多剤排出トランスポーターMexB の構造生物学的研究, 吹田(大阪), 2011年6月7日-9日, 日本蛋白質科学会</p> <p>一般向け 計1件</p> <p>東工大・高校生一般向け公開講演会「東工大が誇る若手研究者たち」、村上聡、薬が効かない微生物の生き残り戦略、東京、2011年10月8日、東京工業大学</p>

様式19 別紙1

図書 計0件	
産業財産権 出願・取得状 況 計0件	(取得済み) 計0件 (出願中) 計0件
Webページ (URL)	所属する東工大・生命理工学研究科のホームページ上で、発表論文や研究内容について公開している。 http://www.xtal.bio.titech.ac.jp/top-j.html
国民との科学・技術対話の実施状況	東京工業大学・高校生・一般向け公開講演会「東工大が誇る若手研究者たち」 「薬が効かない微生物の生き残り戦略」と題し、本研究プログラムで行われている研究の目的、内容や、これまでの成果と今後の展望について、高校生や一般市民向けに説明した。また、質疑応答の機会を設け、多くの参加者から評価を受けた(一般参加者 63名)。
新聞・一般雑誌等掲載 計1件	大学受験生向け新聞「東進タイムズ」11月号にて、高校生・一般向け公開講座が、「若手研究者による高校生向け公開講演会」として報じられ、本研究プログラムで行われている研究内容について、インタビュー記事が掲載された。
その他	

4. その他特記事項

実施状況報告書(平成23年度) 助成金の執行状況

本様式の内容は一般に公表されず

1. 助成金の受領状況(累計)

(単位:円)

	①交付決定額	②既受領額 (前年度迄の 累計)	③当該年度受 領額	④(=①-②- ③)未受領額	既返還額(前 年度迄の累 計)
直接経費	122,000,000	64,165,000	0	57,835,000	0
間接経費	36,600,000	19,249,500	0	17,350,500	0
合計	158,600,000	83,414,500	0	75,185,500	0

2. 当該年度の収支状況

(単位:円)

	①前年度未執 行額	②当該年度受 領額	③当該年度受 取利息等額 (未収利息を除 く)	④(=①+②+ ③)当該年度 合計収入	⑤当該年度執 行額	⑥(=④-⑤) 当該年度未執 行額	当該年度返還 額
直接経費	64,065,000	0	5,542	64,070,542	54,214,491	9,856,051	0
間接経費	19,219,500	0	0	19,219,500	19,219,500	0	0
合計	83,284,500	0	5,542	83,290,042	73,433,991	9,856,051	0

3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	40,787,574	脂質キュービック相微量分注装置、実験試薬等
旅費	1,473,333	研究成果発表旅費、研究打ち合わせ等
謝金・人件費等	10,756,875	研究補助員人件費
その他	1,196,709	学会参加費、実験機器修理・保守等
直接経費計	54,214,491	
間接経費計	19,219,500	
合計	73,433,991	

4. 当該年度の主な購入物品(1品又は1組若しくは1式の価格が50万円以上のもの)

物品名	仕様・型・性能 等	数量	単価 (単位:円)	金額 (単位:円)	納入 年月日	設置研究機関 名
脂質キュービック相 (LCP)微量分注装 置	MosquitoLCP	1	10,232,491	10,232,491	2011/10/18	東京工業大学
グラジェント・ステー ション	153-001	1	2,757,300	2,757,300	2011/10/21	東京工業大学
スイングロータ	P40ST	1	2,088,985	2,088,985	2011/12/6	東京工業大学
Rockimagerシステ ム用紫外光源ユ ニット	RockImagerUV	1	8,190,000	8,190,000	2012/2/29	東京工業大学
ハイスピードマルチ ディスペンサー	Formulator10	1	8,746,500	8,746,500	2012/2/29	東京工業大学