

X-ray crystallographic study on biological molecular interaction

生体分子間相互作用に関する X線結晶学的研究

プロジェクトリーダー 三 木 邦 夫

京都大学

大学院理学研究科 教授



1. 研究の目的

多くのタンパク質分子は、他のタンパク質、核酸などの生体高分子や、基質、金属、補欠分子などの小分子と相互作用することによって、その機能上担っている生体反応をつかさどっています。したがって、タンパク質が関与する生体反応のメカニズムを解明し、その機能調節のしくみを原子レベルで考えるためには、タンパク質分子の立体構造に基づいた研究（構造生物学的研究）が不可欠です。なぜなら、20種類のアミノ酸が重合したポリマーであるタンパク質は、折れ畳まれて立体構造を形成することで初めて、その機能が発現されるからです。私たちが生命を維持するために必要な生体内反応は、タンパク質や核酸をはじめとする極めて多くの生体分子が互いに相互作用することによって起こっているといえます。本研究は生体分子間相互作用の分子機構の解明を目指して、生体高分子の立体構造をX線結晶学的手法を中心に決定し、タンパク質-タンパク質間の相互作用、タンパク質のDNA認識およびその調節機構、種々の補欠分子によるタンパク質分子の活性化など、生命科学現象の本質的な問題を理解することを目的としています。その結果は、単に生体分子による生体内反応の理解にとどまらず、医学、薬学、農学、工学など多方面への応用に対して基礎的な情報を提供することになります。



2. 研究の内容

本研究ではX線結晶解析によって決定した生体高分子の立体構造を基盤として、タンパク質とタンパク質、タンパク質とDNA、タンパク質と基質分子、タンパク質と補欠分子の相互作用のメカニズムを明らかにすることを目的としています。そのために、タンパク質分子、タンパク質 - タンパク質複合体、タンパク質 - 基質複合体、タンパク質 - DNA複合体を対象として、それぞれの結晶構造の決定を行います。さらに、タンパク質が機能を発現するには複数のタンパク質サブユニットが会合して超分子形成を必要とする場合も多くあり、ひとたび結晶ができるとその分子量に関係なく構造解析が可能なX線結晶学の手法は、そのような巨大分子量の超分子複合体の構造決定にも最適です。本研究は、この手法の利点を最大限に用いて、また、この分野のこれからの研究に欠かすことのできない第三世代放射光光源（SPring-8）の利用を含めた新しい結晶構造解析法の開発も交えながら、多くの生体高分子の立体構造決定を行い、得られた立体構造情報に基づいて、様々な生体分子間相互作用を分子論的に理解し、その構造と機能の間の相関を解明しようとするものです。

たとえば、タンパク質とDNAの分子間相互作用を例にとると、紫外線などで損傷を受けたDNAを修復するタンパク質、DNAの複製開始を制御するタンパク質とDNAオリゴマーとの複合体の構造解析などを進めています。DNA修復タンパク質の1つである光回復酵素（photolyase）の立体構造決定では、そのDNA認識ならびに補欠分子認識に関して次のような研究を進めています。このタンパク質は紫外線によってDNAに生じる損傷であるチミン（ピリミジン）二量体に結合し、その後吸収する可視光のエネルギーを用いて元の単量体に修復します。細菌由来光回復酵素には2種類の補欠分子が含まれます。DNA修復反応に直接関与するとされる触媒補欠分子は、多くの種に共通してフラビンFADで、一方、可視光を吸収して、そのエネルギーを触媒補欠分子FADに伝達する集光補欠分子は種によって異なり、デアザフラビン型のもの、プテリン型のもが知られています。私たちが結晶構造を決定したラン色細菌由来の光回復酵素はデアザフラビン型の集光補欠分子を持ちます。タンパク質分子の中央に空洞があり、ここにDNAの損傷部分（ピリミジン二量体）がすっぽり入ることからこの空洞がDNA認識部分であると考えられます。分子のフォールディングは、プテリン型集光補欠分子を持つ大腸菌由来の酵素とよく似ているのですが、非常に興味深いことに、化学種の違う集光補欠分子の結合位置は両者でまったく異なっていることがわかりました。両者の一次構造の相同性は約52%あり、集光補欠分子結合部分もアミノ酸の相同性は保持されているのですが、僅かな保存されていないアミノ酸が、それぞれで異なる集光補欠分子の認識に重要な役割を果たしていることがわかりました。これは相同なアミノ酸配列が、異なる補欠分子を認識・結合している希な例であり、この集光補欠分子の結合の違いが、両者における補欠分子間のエネルギー伝達効率にも密接に関係していることも明らかになりました。現在は、DNA認識のメカニズムをより詳細に調べるため、この光回復酵素と損傷DNAとの複合体の結晶化と構造解析を目指しています。

3. 研究の体制等

期 間：1997年6月～2002年3月

構 成：プロジェクトリーダーの他、3名のコアメンバーで研究を進めています。

実施場所：京都大学大学院理学研究科生物構造化学研究室を中心に研究を行っています。

