

先端研究拠点事業
平成17年度 事業実績報告書

採用年度	平成17年度
種別	拠点形成促進型
分科細目	生物科学生物物理学
採用番号	17009

領域・分野	生物学
分科細目(分科細目コード)	生物科学 生物物理学(5803)
採用番号	17009
研究交流課題名(和文)	圧力を用いる蛋白質構造とダイナミクスへの新しいアプローチ
研究交流課題名(英文)	New approach to protein structure and dynamics from pressure-axis experiments
採用期間	平成17年4月～平成19年3月(24ヶ月)

《実施組織体制》

日本側

拠点機関名	近畿大学・生物理工学部
実施組織代表者(職・氏名)	学部長・山本和夫
コーディネーター(職・氏名)	生物理工学部教授・赤坂一之
協力機関数	5
参加者数	37

相手国1

国名	フランス
拠点機関名	Centre de Biochimie Structure, INSERM
実施組織代表者(職・氏名)	Centre de Biochimie Structure, Directeur de Recherche, Dr. Catherine Royer
コーディネーター(職・氏名)	Centre de Biochimie Structure, Directeur de Recherche, Dr. Catherine Royer
協力機関数	1
参加者数	4

相手国2

国名	ドイツ
拠点機関名	レーゲンスブルグ大学
実施組織代表者(職・氏名)	生物・基礎医学部・学部長・Hans-Robert Kalbitzer
コーディネーター(職・氏名)	生物・基礎医学部・教授・Hans-Robert Kalbitzer
協力機関数	0
参加者数	4

相手国3

国名	アメリカ
拠点機関名	Los Alamos National Laboratory
実施組織代表者（職・氏名）	Theory division, Senior Fellow, Dr. Hans Fraunfelder
コーディネーター（職・氏名）	生物・基礎医学部・教授・Hans Fraunfelder
協力機関数	2
参加者数	4

交流目標の達成（見込）状況

平成17年度事業計画における達成目標

(セミナー)できるだけ早い機会に、蛋白質に対する圧力効果の基礎的理解のためのワークショップを Frauenfelder 博士、Kalbitzer 教授らと協同立案して開催。この機に、拠点代表者間で共同研究・研究者交流、学術情報の収集の活動などについて方針を決定。

(共同研究)海外の拠点研究者が蛋白質試料をもって一定期間来日し、近畿大学でオリエンテーションと予備実験ののち、理化学研究所播磨研究所のオンラインセル型多次元高圧NMRを用いて、当該グループの若手研究者と共同で測定する。簡単な解析を行ったのち、その結果について共同で討議し、詳細解析の方針等を決め、後は帰国後に詳細にデータ解析を行う。メールなどでのやりとりと必要に応じて相互訪問し、検討を重ねて論文を仕上げる。国内の協同研究者とも、海外研究者と同様の方法で共同研究と人的交流を行う。

(研究交流)拠点を代表する研究者が機会をみて互いに訪問し、自分たちのこれまでの研究成果についてセミナーを行う。

(人的交流)近畿大学・理化学研究所播磨研究所の研究者・大学院生(可能な場合、国内他の機関の協力研究者も)が、一定期間滞在して、NMRによる構造解析(レーゲンスブルグ)蛋白質ダイナミックスの理論的研究(アメリカ)、高圧蛍光測定法によるフォールディング研究(フランス)、アミロイド形成機構の研究、などに携わり、訓練をうけながら研究する。

平成17年度事業計画の達成状況

A 学術的な成果

(セミナー)予定より時期は遅れたが、18年1月の沖縄における先端的な国際セミナーは、この分野での世界のトップの研究者を集め、非常に密な議論を展開し、当分野の先端地平を切り開く極めて有効な役割を果たし、次年度以降の国際協力による当分野のさらなる活性化の起爆剤となった。また、国際セミナーを通じて、新たな研究協力の目が誕生した。

(共同研究)独、仏、米の研究者達(拠点機関、協力機関、その他)が蛋白質試料をもって一定期間来日し、近畿大学において研究交流し、理化学研究所播磨研究所のオンラインセル型多次元高圧NMRを用いて、当該グループの若手研究者と共同で実験した。また、日本の拠点のコーディネーターやメンバー、博士前期課程の院生達が、独、仏、米の拠点もしくは協力研究者を訪問し、実際に実験に携わり、またセミナーと研究討議を行った。まだ継続中のものが多い。国内でも、特に高圧NMR、アミロイド、深海蛋白質、高圧下結晶解析などの分野で共同研究が進展した。学術的な成果は十分に上がったと考えている。

B 若手研究者養成における成果

(人的交流)計画した人的交流はすべて実行された。今年度は近畿大学、立命館大学の大学院生4人がモンペリエールの拠点機関において高圧蛍光測定法によるフォールディング実験を行った。理化学研究所の若手研究者がNMRによるダイナミック解析のため、モンペリエール大学やレーゲンスブルグ大学で訓練をうけながら実験を行った。近畿大学の研究者が蛋白質ダイナミックスの理論的研究のアメリカ Rensselaer 工科大学を訪問した。

(セミナー)平成17年5月と平成18年3月の2回にわたり近畿大学生物理工学部(和歌山)における国内の教育的セミナーにより、圧力と蛋白質という新しい分野において、近畿大学の学生及び若手研究者の啓蒙と教育に貢献した。また、先端的な国際セミナー(沖縄)では、多くの院生がポスター発表した。今年度は近畿大学、立命館大学の大学院生4人がモンペリエールの国際学会議においてポスター発表した。またドイツの拠点機関で近畿大学の若手研究者3人が自分の研究についてセミナー発表を行い、研究交流を行った。特に直接外国の研究機関での実験や国際会議での発表の機会は、院生などの若手への大きな刺激となった。

C 国際的学術情報の収集整備

データベース構築については、方針を沖縄のセミナーで話し合った。これまで発足している国際的なデータベースとの連携などが話し合われた。しかし、まだ高圧蛋白質のデータの蓄積が少ないので、いきなりフォーマットを作ってスタートする段階ではないこと、今後様々なレベルでデータ蓄積を行い、継続して話し合うことを確認した。

D 事業の波及効果

(共同研究の活性化) 平成18年1月の沖縄における非常に先端的な国際セミナーは、この分野での世界のトップの研究者を集め、非常に密な議論を展開し、当分野の先端地平を切り開く極めて有効な役割を果たし、次年度の国際協力による当分野のさらなる活性化の起爆剤となった。具体的には、初年度の沖縄セミナーに続いて、平成18年度は、2006年8月末に、モンペリエール Hameau de l'Etoile において、蛋白質への圧力効果に関する基礎的理解をさらに進めるためのセミナー“Protein Hydration and Structural Dynamics”を、フランスの拠点研究者 Catherine Royer が主催して行うことが決定している。研究面では、フランスの新しいシンクロトン施設 SOLEIL の高圧X線結晶学の Prof. Roger Fourme との新たな共同研究計画、アメリカ Rensselaer 工科大学(Prof. Angel Garcia) の高圧NMR 構造に対する Molecular Dynamics 計算の開始、フランスコーディネーター Catherine Royer と近畿大学グループ、立命館グループとの蛋白質フォールディングに関する共同研究など、いくつかの新たな研究が開始された。

(若手研究者への刺激) これに先立って、平成17年9月のフランス・モンペリエールでの高圧蛋白質科学国際会議への大学院生を含む若手研究者の参加とフランス拠点での実験参画などを通じて、若手研究者において国際交流が進行し、よい効果をもたらしている。これらは若手研究者に新しい刺激と研究意欲を与え、近畿大学の拠点の研究室では、平成18年度は新たに4名の博士後期課程進学がある。

(国内・国際的な関心の高まり)

国内外での本プロジェクトへの関心が増え、国内メンバーは既に43名に達している。国際的には、本プロジェクト発足によって、圧力を用いる蛋白質ダイナミクス研究の世界的規模での活性化が、日本のリーダーシップによって開始された点が重要である。これに呼応して、日本の拠点コーディネーターには、Chemical Reviews をはじめ多数の国際誌から「圧力を用いる蛋白質研究」について総説執筆の依頼があり、世界的規模での当該先端研究分野への関心の高まりが感じられる。また、協力機関である新潟大学の鈴木敦士教授が chairman を務める『高圧力バイオサイエンスとバイオテクノロジーに関する第4回国際会議』が、2006年9月25-29日、つくばにおいて開催される。

実施状況

研究交流計画実施にあたる実施体制

予定通り、仏、独、米の研究グループ（先端研究拠点を含む）と、近畿大学、理化学研究所、立命館大学らとの研究者交流が進展し、共同研究も進展した。また、沖縄セミナー等を通じて、仏、独、米の拠点以外の研究者との新たな接触があり、新たな研究交流と共同研究が立案された。例えば仏のシンクロトロン SOLEIL を代表する Dr. Fourme との高圧X線結晶解析の共同研究計画が立案された。また、これらの国で Core-to-core プロジェクトへの参加者が増大し、仏、独の拠点がそれぞれの国内でハブとして働く方向が定まった。アメリカでは、新たに Angel Garcia (Rensselaer 工科大学)との連携が強まり、今後同大学が米国の中軸機関として機能する可能性が高い。国内でも、研究交流が進展し、当プロジェクトへの参加者が著しく増大した。

日本側拠点機関における研究交流課題への取り組み（事務支援体制等の観点より）

JSPS から受けた委託手数料のすべてを拠点機関の配慮により、事務補助者の雇用経費にあてることができ、さらに、拠点機関（近畿大学生物理工学部）から、本拠点業務推進のために専用の研究室が提供された。これによってホームページなどの広報活動、国際セミナーなどに関する各種連絡業務が可能となり、国際セミナーを成功裏に開催できた。拠点業務には、多数の研究機関や国内外のメンバー、ノンメンバーの関係する極めて多種多様な業務に対応する必要がある。経費にかかる各研究協力機関および研究協力者への連絡・調整、収支管理は拠点機関の事務担当者が全面的に行い、事務補助者はコーディネーターのバックアップを行った。平成18年度には、当プロジェクトへの国内参加メンバーだけで40名を越える予定である。拠点機関では、継続して支援していく方針である。

共同研究

枠組み 共同研究を実施するにあたって、当初立案した各研究プロジェクト KA1~KA7 の7つの枠組みは、これまでにメンバーによってある程度確立された分野と今回新たに立案された野心的な分野の両方を含むが、それぞれ年度内に進展があった。このうちでも KA1 の研究は17年度に特に大きく拡大した。再来年度に新たな申請を行う時点で、枠組みの再編を行いたい。また、その時点で、拠点機関の変更を含む国際的な枠組みの拡大・再編も考慮する。

活動内容、得られた成果

KA1. 「広い構造空間における蛋白質構造・ダイナミクスの圧力実験と理論研究」

Ubiquitin について、基本構造とは異なる活性型構造の解析に高圧NMRによって初めて成功し、その画像を“NMR スナップショット”と名付けて発表した。新聞などにも取り上げられ、得られた加圧下の蛋白質構造図は BBA 特集号の表紙にも採用される予定である。そのほか、DHFR, NEDD8, OspA, Cytb5, T4lysozyme など、多くの蛋白質について高圧NMRを適用し、それぞれの高エネルギー構造の特性を明らかにする研究を国際共同で行い、日、独、仏、米、英、台湾などの広範な研究者の期待に答えている。1-3000気圧で蛋白質のNMRスペクトルを高い分解能で観測できる高圧NMR装置は当プロジェクトの協力機関である理研播磨研究所以外にはなく、国際拠点としての役割を十分に果たしている。

KA2. 「圧力を用いる蛋白質準安定構造のX線構造解析法の確立」

フランス・ソレイユのDr. Roger Fourmeと拠点リーダー他数名はモンペリエールと沖縄のセミナーで会い、協議の上、加圧下の蛋白質準安定構造の解析を、高圧NMRと高圧X線結晶解析の両方で行って比較する、野心的な国際共同研究計画を立案し、理化学研究所と立命館大学で蛋白質の結晶化が行われている。

KA3. 「深海微生物由来の蛋白質設計特性に関する研究」

2種の深海微生物 (*Moritella profunda* と *Shewanella violacea*) 由来ジヒドロ葉酸還元酵素 DHFR について、初めて高圧NMRによる研究が行われ、深海蛋白質独特の熱力学特性が次第に明らかになりつつある。

KA4. 「圧力を用いるアミロイド形成機構と凝集体可溶化に関する研究」

高圧NMRを用いて、S-S結合を欠損したニワトリリゾチームの0SS体による凝集体プロトフィブリルを、加圧によってモノマーにほぼ完全に解離する実験に成功した。また、高圧蛍光によって、解離のキネティックスの圧力依存性を詳しく研究し、解離・会合の反応スキームを確立した。同様の実験手法により、S-S結合を様々に欠損したニワトリリゾチームのアミロイド線維形成反応に適用し、変性構造とアミロイド形成との関連を追及している。高圧FTIRによるインシュリン凝集体に関する実験が立命館大学で進行している。

KA5. 「加圧による食品加工とアレルギー性軽減機構の解明」

ウサギ、豚、牛などの筋肉内在性プロテアソームに及ぼす高圧処理の影響およびその食肉軟化への関わり、超高圧処理がウシ-グロブリンのIgE結合性と構造に及ぼす影響などについて成果があった。

KA6. 「蛋白質圧力変性構造に関する実験的・理論的研究」

蛋白質の圧力変性研究の一環として、典型的な・ヘリックスを取り上げ、その圧力安定性についてFTIRによって研究し、RISM法による計算結果と比較して、両者が一致する結果を得た。

KA7. 「蛋白質内キャビティーの解析とデータベースの構築」

蛋白質内キャビティーの解析プログラムを独自に開発し、リゾチームなどについて、生物種間での保存性を明らかにした。また加圧に伴う蛋白質内キャビティーと水和の動態について分子動力学計算を開始した。

セミナー

セミナーは世界のトップ研究者を集めて行う先端国際セミナーと、当プロジェクトメンバーのほか、院生・学生・その他の研究者を主な対象とする啓蒙的国内セミナー及び教育的国内セミナーとを行った。

(先端国際セミナー) 18年1月の沖縄における非常に先端的な国際セミナーは、この分野での世界のトップの研究者を集め、非常に密な議論を展開し、当分野の先端地平を切り開く極めて有効な役割を果たし、国際協力による当分野活性化の起爆剤となった。これを受けて、2006年には、フランス・モンペリエールにおいて、蛋白質への圧力効果に関する基礎的理解をさらに進めるためのセミナーを、フランスの拠点研究者 Catherine Royer が主催して行うことがすでに決定されている。その後も、各国持ち回りで、同様のセミナーを継続して行うことを、コーディネーター間で話し合っている。

(啓蒙的国内セミナー) 発足間なしの2005年5月に、経過報告、メンバーの顔合わせ、研究プロジェクトの内容などについての打ち合わせを兼ね、近畿大学生物理工学部(和歌山)において研究プロジェクトの内容と関連する啓蒙的国内セミナーを行い、多数の一般学生が参加し、深海生物の研究などに特に大きな関心が集まり、メンバー互いの研究への認識を新たにし、また余り一般に知られていない当該分野の啓蒙に役立った。

(教育的国内セミナー) 2006年1月に、沖縄セミナーでは講演いただけなかった日本の優れた研究を近畿大学に来ていただき、当該研究者によるセミナーを、主として大学院生・研究者を対象に開催した。若手研究者の教育的効果と先端研究結果についての討論の両方を目的とし、日本語で時間を充分とって、最初の1時間をやさしい講義に、次の1時間を先端研究の内容について話していただいた。この教育と先端研究を結びつけるこの講演スタイルは、学生、若手研究者の間で好評であり、今後も継続したい。

研究者交流

拠点リーダーは、渡仏一回、渡米一回の海外での交流、及び仏、独の拠点リーダーの近畿大学訪問時において、それぞれ拠点リーダー(米ではその実質担当候補者)と会い、交流プログラム、共同研究プロジェクトの運営について協議を重ねた。また、院生を含む研究者と期間をオーバーラップして訪れ、訪問先での実験等がスムーズに進行するよう取り計らった。協力機関の谷口教授も、仏において同様の役割を果たした。その他の交流はメールで行い、特に緊急の場合は電話で相談を行った。

中堅研究者(橘、森本、藤澤、北原、中井等)は、それぞれ独立して国外拠点もしくは関連研究室を訪問し、それぞれの研究テーマについて、研究討議、学会発表、共同実験等を行った。

大学院生・ポスドク〔近畿大学と立命館大学〕は、研究指導者によるオリエンテーションを受けて、仏、独の拠点機関に滞在し、実験やセミナー、研究交流、学会発表等を行った。