

理学専攻
生物・環境化学分野

分子機能制御研究室

Mol. Function & Regulation. Lab.

講師

島本 茂

Lecturer

Shigeru Shimamoto

キーワード

等温滴定熱測定, 核磁気共鳴法, 溶液構造, 相互作用, 構造形成, 蛋白質, ペプチド, リポカリン, 酵素, プロスタグランジン, 睡眠物質

Isothermal titration calorimetry (ITC), Nuclear magnetic resonance (NMR), Solution structure, Interaction, Folding Protein, Peptide, Lipocalin, Enzyme, Prostaglandin (PG), Somnogen

研究内容

[1] リポカリン蛋白質に関する研究

リポカリン蛋白質群(Lipocalin super family)は、細菌類からヒトなどの高等生物に至るまで幅広く存在する分泌蛋白質の一群である。リポカリン蛋白質は、アミノ酸配列の類似性が低いにもかかわらず、その構造は非常に類似しているという特徴がある。“機能に関わる領域”と“全体の構造安定性に関わる領域”ことから、リポカリン構造の安定性を損なうことなくリガンド結合などの機能改変が可能であり、人工結合蛋白質の鋳型として期待できる。本研究では、様々なリポカリン蛋白質の構造解析・機能解析を行い、その構造機能相関を理解し、新たな機能を付加した人工機能蛋白質の創成を目指す。

1-1. リポカリン型プロスタグランジン D 合成酵素(L-PGDS)は、リポカリンの中で唯一酵素に進化した蛋白質である。また、リポカリンの中でも特に広いリガンド選択性を持つ。この L-PGDS が、脂溶性リガンドだけでなく、親水性リガンド(NAD 構造)にも選択的に結合することを見出した^{(1),(2)}。

1-2. L-PGDS が基質 PGH₂ だけでなく生成物 PGD₂ とも結合することを見出した⁽⁷⁾。このことから、L-PGDS は、睡眠物質を合成し、さらに運搬することで睡眠調節に関わっていると考えられる。また、L-PGDS と PG 類の詳細な相互作用解析を行い、酵素反応サイクルにおける基質結合と生成物放出のメカニズムを解明した。さらに、(活性部位とは異なる)酵素サイクル調節部位を見出し、L-PGDS をターゲットとした睡眠調節薬開発に有用な知見を得た⁽⁷⁾。

1-3. 犬アレルギー蛋白質 Canf6 は、犬の主要アレルギーの1つである。また、Canf6 はアミノ酸配列の相同性からリポカリン蛋白質群に属することが分かっている。Canf6 の立体構造決定とエピトープ部位の同定を行った⁽⁴⁾。

[2] 化学修飾・構造制御に関する研究

蛋白質やペプチドを目的のアミノ酸配列で合成することが比較的容易にできるようになって久しい。しかし、一方で、目的の構造を持った人工蛋白質やペプチドを創成するには、未だに多くの課題が存在する。本研究では、蛋白質やペプチドの立体構造形成機構を解明、および、立体構造形成を制御する添加剤や手法の開発を目指す。

2-1. 微生物等を使って作成した遺伝子組換え蛋白質と化学合成したものを融合する手法として、Native Chemical Ligation (NCL)がある。この NCL では、融合する一方の配列の N 末端が Cys 残基である必要がある。NCL に利用できる現象として、-Asp-Cys-の配列を持つペプチドが酢酸などの酸性条件下で切断できることを見出した。また、酸切断条件の最適化と NCL への応用を行った⁽⁵⁾。

2-2. ジスルフィド結合(SS 結合)を複数有する蛋白質やペプチドでは、SS 結合の組み合わせが同じにもかかわらず構造が異なる異性体(トポジカル異性体)が生じることがある。耐熱性エンテロトキシン(ST)を用いて、トポジカル異性体を選択的に得る手法の最適化とそのメカニズムの解明を行った⁽⁶⁾。

[3] 構造解析・相互作用解析・物性解析

生理的現象を解明するためには、そこに関与する生体分子そのものの物質としての性質を理解する必要がある。NMR や CD、ITC などを用いて、生体分子の持つ特性や機能の解析を行っている⁽³⁾。

最近の業績

[論文・報告]

- (1) Thermodynamic and NMR analyses of NADPH binding to lipocalin-type prostaglandin D synthase. Qin S., Shimamoto S., Maruno T., Kobayashi Y., Kawahara K., Yoshida T., Ohkubo T., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 468(1-2), 234-239 (2015)
- (2) ITC Analysis of Ligand Binding to Lipocalin-type Prostaglandin D Synthase. Shimamoto S, and Maruno T., *Netsu Sokutei*, 44(3), 108-116 (2017)
- (3) N-terminal HCV core protein fragment decreases 20S proteasome activity in the presence of PA28γ. Zheng Y, Shimamoto S, Maruno T, Kobayashi Y, Matsuura Y, Kawahara K, Yoshida T, Ohkubo T., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 509(2), 590-595 (2019)
- (4) Crystal structure of the dog allergen Can f 6 and structure-based implications of its cross-reactivity with the cat allergen Fel d4. Yamamoto K, Ishibashi O, Sugiura K, Ubatani M, Sakaguchi M, Nakatsuji M, Shimamoto S, Noda M, Uchiyama S, Fukutomi Y, Nishimura S, Inui T., *Sci. Rep.*, 9(1), 1503 (2019)
- (5) Chemical Digestion of the -Asp-Cys- Sequence for Preparation of Post-translationally Modified Proteins. Shimamoto S., Mitsuka N., Takahashi S., Kawakami T., Hidaka Y., *Protein J.*, 39(6), 711-716 (2020)
- (6) Topological Regulation of the Bioactive Conformation of a Disulfide-Rich Peptide, Heat-Stable Enterotoxin. Shimamoto S., Fukutsuji M., Osumi T., Goto M., Toyoda H., Hidaka Y., *Molecules*, 25(20), 4798 (2020)
- (7) Substrate-induced product-release mechanism of lipocalin-type prostaglandin D synthase. Shimamoto S., Nakagawa Y., Hidaka Y., Maruno T., Kobayashi Y., Kawahara K., Yoshida T., Ohkubo T., Aritake K., Kaushik K. M., Urade Y., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 569, 66-71 (2021)

[その他：賞・外部資金]

- (8) 研究奨励賞 (日本薬学会物理系支部会：2015)
- (9) 科研費 若手研究(B) (代表：2016-2019)
- (10) 科研費 基盤研究(A) (分担：2016-2019)
- (11) ネオファーマジャパン 受託研究 (2019-2021)