

論文全文要約

Structure and function of engineered
stromal cell-derived factor-1 α

遺伝子組み換え技術により改変された

SDF-1 α の構造と機能

Dental Materials Journal, 2023, in press.

主指導教員：谷本 幸太郎教授

(医系科学研究科歯科矯正学)

副指導教員：加藤 功一教授

(医系科学研究科生体材料学)

副指導教員：太田 耕司教授

(医系科学研究科 公衆口腔保健学)

阿部 文香

(医系科学研究科 医歯薬学専攻)

近年、口蓋裂など骨欠損を伴う疾患の治療を目的として、組織工学に基づく新たな治療技術に関する研究が盛んに行われている。そのようなアプローチにおいて、足場材料内に播種あるいは浸潤する細胞の挙動を生物学的に制御することの重要性が認識されるようになり、生物学的機能を有するタンパク質を組み込んだ足場材料の設計に注目が集まっている。そこで、我々は骨形成の促進を目的としたそのような研究の一環として、細胞遊走促進作用を有する stromal cell-derived factor-1 α (SDF) とコラーゲン結合性を有する von Willebrand 因子 A3 ドメイン (CBD) を融合させたキメラタンパク質の有用性について着目し、その設計指針を得ることを目的として、ドメイン間の融合が双方の立体構造及び機能発現に及ぼす影響について調査した。

まず、融合順序の異なる 2 種類のキメラタンパク質 (SDF-CBD 及び CBD-SDF) とコントロールとして SDF 及び CBD のみからなるタンパク質を大腸菌の遺伝子組換えにより作製した。タンパク質の 2 次構造は円二色分光分析にて、機能解析として SDF ドメインの細胞遊走促進効果を細胞遊走アッセイで、CBD ドメインの結合能は collagencoat 表面への結合量にて評価した。さらに、3 次元構造予測を人工知能を利用した構造予測プログラム AlphaFold2 で行うことでより詳細に解析した。

結果として、4 種類のタンパク質を精製後、これらの構造解析や機能評価、および立体構造予測により独立した二つのドメインを融合することでそれぞれの機能に影響を及ぼすことが分かった。特に SDF ドメインに構造変化が見られること、CBD と collagen の結合時に融合パートナーになることで結合が阻害される可能性が示唆された。また、AlphaFold2 は CD 分析の結果と必ずしも一致するわけではなかったことから、AlphaFold2 のドメインアッセンブリーの改良の余地やタンパク質精製方法の再検討などが必要であると判明した。以上のことから我々は、CBD の N 末端に SDF を融合することが望ましいというキメラタンパク質の設計指針を得ることができた。