

提出日：2020年 3月 9日

平成 27 年度 大阪大学蛋白質研究所 拠点事業

(2) 研究成果の概要

課題名	<i>Helicobacter pylori</i> 由来のニッケル特異的結合タンパク質 Hpn の構造機能相関	
研究代表者	氏名	森田 勇人
	所属機関名・部局名	愛媛大学・農学・生物資源学科
	職名	准教授
事業名 (該当の事業名の右欄に○)		共同研究員
	○	超高磁場NMR 共同利用研究課題
		クライオ電子顕微鏡共同利用研究課題
		客員フェロー
蛋白研受入担当教員名	藤原 敏道 (蛋白構造生物学研究部門)	
<p>背景—ピロリ菌 (<i>Helicobacter pylori</i>) は、細胞内でその活性発現にニッケルイオンの存在が必須である Urease を産生することで、アンモニアを分泌し、胃酸を中和することで、強酸性の胃の中での生育を可能としている。細胞内ニッケルイオン濃度調節機構には、ニッケル特異的結合タンパク質 Hpn が関わっていることが明らかになっているが、Hpn によるニッケルイオン濃度調整の分子機構については明らかになっていない点が多い。</p> <p>本研究では、安定同位体標識を行った Hpn の多次元 NMR スペクトルを測定することで、Hpn のニッケルイオンに対する高い結合親和性をもたらす構造要因を特定するとともに、Hpn の複合体形成と機能発現との相関関係についても構造化学的観点から明らかにすることを目指した。</p> <p>研究手法—これまでに確立した Hpn を大量生産するための、小麦胚芽無細胞タンパク質合成系ならびに大腸菌大量発現系を用いて、安定導体標識された Hpn を作製し、多次元NMR分光法でその単量体ならびに複合体（主として二量体）のニッケルイオン結合様式を中心とした溶液構造の差異を解明することを目指した。</p> <p>研究成果—9月までの年度前半において、¹⁵Nで標識を行った Hpn を、大腸菌大量発現系を用いて作出した。一方、大腸菌大量発現系で作出した Hpn は、超音波による細胞破碎で抽出すると、複合体と単量体が混ざった状態であることがわかったことから、抽出後の精製の過程での、複合体と単量体の分離や、単量体もしくは複合体が主として得られる抽出or培養条件の検討を行ったが、最適化された条件を見つけ出すには至らなかった。その後、学校法人城西大学理学部への転出が決まったことから。年度後半は、11月までに転出先での研究活動継続のための諸準備、12月以降は転出先での構造生物学研究活動を行うための研究室立ち上げ、ならびに城西大学機器センターに既設の FT-NMR (700MHz、Varian, Cold-Probe system付) を用いた計測環境の整備を行ったため、年度前半で明らかとなった問題点をクリアするには至らず、平成28年度において引き続き本研究課題を継続することとした。</p>		