

提出日：平成 29 年 5 月 19 日

平成 28 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	NMR による細胞内タンパク質の構造解析		
研究代表者	氏名	朽尾豪人	
	所属機関名・部局名	京都大学・大学院理学研究科	
	職名	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 教授		
<p>タンパク質の立体構造情報は、その生物学的・生化学的機能を理解するための基盤である。タンパク質の原子座標を決定できる手法としては、X 線結晶構造解析法と NMR、極低温電子顕微鏡を用いた単粒子解析法があるが、何れも「高度に純化したタンパク質試料」が解析対象であり、本来タンパク質が機能する環境（細胞内や生体内環境）とは大きく異なる状態で解析される。従って、可塑的な領域について得られる構造情報が、細胞内での状態を反映していない可能性がある。また、細胞内の環境は内外の状況に応じて変動しており、それに伴ってタンパク質の構造も影響を受けると考えられるが、通常の方法ではそのような影響を解析することはできない。このような背景のもと、細胞内でタンパク質の構造状態を調べる手法が求められてきた。本課題では、NMR 法を生きた細胞に適用することで、細胞内タンパク質を「無侵襲かつ原子レベル」で解析する、「in-cell NMR 法」の開発を進めた。具体的な検討項目としては、タンパク質を細胞に導入する方法、構造情報を得るためのタンパク質の化学修飾法、NMR 測定に供する細胞試料の取扱法、細胞試料に適した NMR 測定パルス系列の検討などを行なった。</p> <p>複数のタンパク質について、ヒト由来の培養細胞を用いた in-cell NMR の測定を検討したところ、得られる NMR スペクトルの質はタンパク質によって異なり、良好なスペクトルが得られるものもあれば、十分量の安定同位体標識タンパク質が細胞内に存在していても殆どスペクトルが得られない場合もあった。また、タンパク質によっては導入量を増やすと、細胞の生育に悪影響を与えるものもあった。細胞内外で NMR スペクトルが異なるものがあつたが、これは、内外で構造状態に違いがあることを意味しており、興味を持たれる。</p>			

※本様式は、“拠点事業成果報告”として、拠点ホームページにて公開させていただく予定です。

※必ず A4 用紙 1 枚におさめて下さい。 ※提出期限：平成 29 年 5 月 19 日（金） ※提出の際は PDF 変換して下さい。

※提出先：大阪大学蛋白質研究所拠点プロジェクト班 E-mail: tanpakuken-kyoten@office.osaka-u.ac.jp