

提出日：平成 30 年 5 月 15 日

平成 29 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	高圧力 NMR による蛋白質の高エネルギー構造の解析		
研究代表者	氏名	北原亮	
	所属機関名・部局名	立命館大学・薬学部	
	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		
<p>水溶液中のタンパク質は、最安定状態から完全変性状態の中で多様なコンフォメーションを取る。高分解能 NMR の発展により、最安定状態を逸脱した高いギブズエネルギーを持った状態（高エネルギー状態）の構造や機能的役割について関心が高まっている。応募者は、圧力が状態間の化学平衡を効果的にシフトできることに着目し、常圧下では通常は少なすぎて観測不可能な高エネルギー状態の存在率を圧力で高め、直接的に NMR 観測できることを数多くの例で示した。</p> <p>本課題では、耐圧 NMR セルシステムを蛋白質研究所 <math>^1\text{H}</math>-950 MHz NMR 装置に設置し、タンパク質の高エネルギー状態の立体構造研究を行った。特に、パーキンソン病との関連から注目が高いリン酸化ユビキチンとライム病の感染に関わる OspA について、高エネルギー構造の解明を目指した。0.1-250 MPa における NMR 測定により以下の結果を得た：①常温常圧下でメジャー状態とマイナー状態の 2 つのコンフォメーション由来の NMR 信号を与えるリン酸化ユビキチンについて、それらの立体構造解析及び圧力効果に関する実験を行った。NOE 及び PRE を用いて 2 つのコンフォメーションの立体構造解析に成功した。圧力効果実験より、マイナー状態ではメジャー状態とは異なる構造揺らぎがあることを見出した。②ボレリア菌の表層に発現する OspA の圧力変性中間体及び温度変性中間体について、常磁性緩和促進 (PRE) 法を用いて立体構造情報の収集を行った。変性中間体では、中央領域と C 末端ドメインの立体構造が壊れ、N 末端ドメインとの距離が離れることを示した。変性中間体は、レセプター結合部位を含む領域が変性し溶媒に露出しており、レセプターとの結合に適していると考えられる。</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 30 年 5 月 18 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