

提出日：平成 30 年 5 月 18 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 | 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 | | |
| <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。通常、立体構造解析は、「高度に純化した」タンパク質試料についてなされるが、その場合、得られる情報が細胞内での状態を完全には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、それに伴ってタンパク質の状態（構造、化学修飾）も変化する。本課題では、NMR 法を生きた細胞に適用し、細胞内の特定のタンパク質の状態を解析し、試験管内との比較を行う。加えて、異なる細胞内環境で、タンパク質の状態がどのように変化するかを観察することを目指す。</p> <p>本年度は、常磁性タグを使った in-cell NMR による立体構造変化の検出を目指し、タンパク質試料の調製と試験管溶液中での測定・解析を行った。解析対象となるタンパク質の特定の部位に Cys を導入し、ここに常磁性ランタノイド金属を配位した低分子化合物を共有結合を介して繋ぐ検討を行った。当初の標識効率は低かったものの、検討の結果、標識効率は 70%程度まで向上した。標識は不完全ではあるものの、ランタノイド金属が誘起する常磁性効果(PCS: pseudo contact shift)のために、多くの NMR 信号の化学シフト値は大きく変化し、非標識体の信号とは明瞭に区別できた。構造既知の部分とランタノイド金属の付加位置に基づいて、大部分の信号を帰属することができ、それら残基の PCS 値を得ることができた。さらに、同試料を用いて、ランタノイド金属による分子配向に起因する残余双極子結合 (RDC: residual dipolar coupling) を検出することができた。解析対象のタンパク質は、溶液中では、大きな構造揺らぎを持っている部分がある。実際に、既知の結晶構造をもとに、得られた常磁性効果を解析すると、溶液中では、当該領域に大きな構造揺らぎが存在することが明らかとなった。今後、PCS と RDC に基づいて、溶液中での当該タンパク質の構造アンサンブルを求める。また、そのアンサンブルに細胞内環境がどのように影響するかを調べる予定である。</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