

提出日：平成 28 年 5 月 20 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	疎水的相互作用による凝集のメカニズムの解明		
研究代表者	氏名	池上貴久	
	所属機関名・部局名	横浜市立大学・生命医科学研究科	
	職名	教授	
事業名 (該当の事業名の右欄に○)	<input type="radio"/>	共同研究員	
	<input type="radio"/>	国際共同研究課題	
	<input type="radio"/>	超高磁場NMR 共同利用研究課題	
	<input type="radio"/>	客員フェロー	
蛋白研受入担当教員名	藤原 敏道 教授		
<p>蛋白質の中には立体構造を保ったまま凝集するものも多く見られる。そのような蛋白質を核磁気共鳴で解析しようとしても、ピークの線幅が広がったり、ピークどうしが重なったりして構造やダイナミクスの解析が非常に難しい。さらに、全てのモル数の蛋白質が凝集していなくとも、たとえば数パーセントほどのモル比の蛋白質だけが凝集しており、それがその他の単分散の蛋白質と交換しているような平衡状態であっても、NMR での解析は難しくなる。当研究ではそのような凝集のメカニズムを物理化学的に解析し、化学修飾や変異など凝集を防いで NMR 解析にもっていけるように改変するための手法を開発することを目的とする。</p> <p>その対象となる蛋白質としてバンコマイシン耐性に関与する VanX を選んだ。これは中性 pH では解析できないような NMR スペクトルを与えるが、pH を 4 まで落とすと幾らか解析が可能なスペクトルとなる。このような pH だけで簡単に凝集の平衡状態を変えることができることから上記の目的に合っていると考えた。また、上記の目的が達成できれば、活性のある中性 pH において、阻害剤の開発に必要な活性部位の pKa などの情報も得られると考えた。</p> <p>しかし、pH4.0 であっても試料のロットによって、ゲル濾過の溶出位置や NMR スペクトルの様子が変わることから、まずはその原因を探ることから始めた。ゲル濾過や質量分析の結果から、VanX<sub>E181A, C78S, C157S</sub> は 2 量体にあることが分かった。さらに、濃度を 100 <math>\mu</math>M 以下に落とすと単量体に解離し、その単量体が不安定であるために部分的に unfold することも分かった。したがって、pH と蛋白質濃度という 2 つの条件によって、unfold, 単量体, 2 量体の間の平衡を行き来することから、初めに考えていたより相図が複雑であることが分かった。</p> <p>現在、2 量体としての立体構造を解明することを優先順位としている。これが分かれば、中性 pH において凝集の様子を観測できると考えている。</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 28 年 5 月 20 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