

提出日：平成 28 年 5 月 2 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                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | 高等真核生物が有する 1 回膜貫通型受容体の発現・精製 |                    |  |
| 研究代表者                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 氏名                          | 禾 晃和               |  |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | 所属機関名・部局名                   | 横浜市立大学・大学院生命医科学研究科 |  |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | 職名                          | 准教授                |  |
| 事業名<br>(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                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 高木 淳一                       |                    |  |
| <p>本課題では、高等生物の機能発現において重要な役割を担う 1 回膜貫通型受容体を取り上げ、シグナル伝達過程におけるリガンド認識と受容体活性化の分子機構を解明することを目的として、タンパク質試料の調製と構造機能解析に取り組んだ。1 回膜貫通型受容体の中でも、脳・神経の発生や細胞増殖に関わる受容体とその細胞外リガンドを取り上げた。</p> <p>神経発生を制御する受容体に関しては、これまでの研究から、リガンドとなる細胞外シグナル伝達タンパク質との間で解離速度の速い一過性かつ低親和性の相互作用を行うことが示唆されていた。このため、プルダウンアッセイ法や等温滴定型カロリメトリー法による親和性の定量化が困難であり、本研究課題では、表面プラズモン共鳴法による定量化に取り組んだ。まず、受け入れ先研究室との共同研究によって、受容体分子の末端に部位特異的にビオチンを導入し、ストレプトアビジンを固定化したセンサーチップに結合させる実験系の構築に取り組んだ。そして、表面プラズモン共鳴法による相互作用解析を行った結果、受容体とリガンドタンパク質は、解離定数が <math>\mu\text{M}</math> オーダーの非常に弱い親和性で結合することが示された。また、これまで受容体分子と細胞外シグナル伝達タンパク質の結合特異性は、細胞上に発現させた受容体に対して、標識したリガンドタンパク質を結合させることによって調べられていた。本研究課題では、表面プラズモン共鳴法を用いることで、精製タンパク質を用いた実験系において結合特異性を検証することにも成功した。</p> <p>脳の層構造形成に関わる受容体と細胞外シグナル分子の研究に関しては、すでに進展していた複合体の X 線結晶解析が完了した。そして、立体構造情報に基づいて変異体解析を行うことで、リガンド認識に関わる相互作用部位を同定し、さらに、リガンド解離の分子機構を理解する上で重要な知見も多数得られた。本研究の成果については、すでに国内の学会でのポスター発表、招待講演などを通じて報告しており、今後、一連の成果をまとめた論文を発表する予定である。</p> <p>細胞増殖に関わる受容体については、シグナル伝達過程での構造変化の追跡を可能とするため、さらなる試料調製に取り組んだ。試料調製法の開発に関する研究については、予備的な実験結果であるが、国内の学会においてポスター発表も行った。</p> |                             |                    |  |