

提出日：平成 28 年 6 月 22 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	常磁性 NMR を用いたタンパク質の構造解析		
研究代表者	氏名	服部良一	
	所属機関名・部局名	徳島文理大学・薬学部	
	職名	助教	
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		
<p>常磁性 NMR では、NOE では得られない長い距離情報や角度情報が得られる。主な常磁性効果として、PRE、PCS および RDC が知られている。PRE はニトロキシラジカルの部位選択的な修飾によって、タンパク質構造の精密化や過渡的複合体の検出に用いられている。PRE は距離にのみ依存するが、PCS は距離と角度、RDC は距離に依存せず角度にのみ依存する。PCS や RDC はタンパク質あるいはタンパク質複合体の構造決定に有用な構造情報となる。PCS や RDC を引き起こすには、磁化率が異方的である必要があり、Gd<sup>3+</sup>以外の常磁性ランタニド金属イオンは磁化率に強い異方性を示す。よって、タンパク質への常磁性ランタニド金属イオンの部位特異的な標識は、PCS や RDC を用いたタンパク質の常磁性 NMR 研究に有用である。本研究では、タンパク質へのランタニドイオンの固定化のために、PhDTA とよばれる小さなランタニドキレート剤を用いて、常磁性 NMR 解析への応用を行った。</p> <p>PhDTA のアルデヒド誘導体を用いて、タンパク質の N 末端に化学修飾を行い、修飾体にランタニド金属イオンを結合させたのち、1H-15N 二次元 NMR 測定によりタンパク質分子に引き起こされる PCS および RDC を観測した。実験的に観測された PCS および RDC が、既知構造から予測される計算値と相関するかどうかの解析を行った。その結果、実験的に観測された PCS および RDC が構造情報を正確に反映するのみならず、測定する溶液の pH を変化させることにより、新たな構造情報が得られることが見出された。実際に、PCS を実験的な制限情報として用いたタンパク質の立体構造解析の精密化を行い、その有用性が実証された。</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