

提出日：平成 29 年 5 月 19 日

平成 28 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	緑藻のフェレドキシン-アイソフォームと光合成の電子伝達系に関する蛋白質との相互作用の解析		
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○)	○	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	栗栖 源嗣 教授		
<p>蛋白質フェレドキシン (Fd) は葉緑体のストロマに存在して電子を伝達する働きを担う。その Fd について、緑藻 <i>Chlamydomonas reinhardtii</i> は 6 個の isoform をもつ。Isoform の存在は、ストレス添加などの環境変化に応じて、相手方蛋白質がそれぞれ最適な Fd を選んでいる可能性を示唆している。その中でもっともよく知られている光合成 Fd が PetF であり、これは Fd1 に対応する。また、Fd2 は NiR との相互作用に最適化された Fd のようである。それぞれの Fd の役割について詳細に調べるため、Fd1 や Fd2 と FNR との相互作用（実験系 a）について調べた。</p> <p>この実験に先立って、Fd と光合成の巨大膜蛋白質との相互作用（実験系 b）を NMR の交差飽和転移法（transfer-cross-saturation, TCS）によって調べた。この方法は上記の実験系 a に適用する予定であるが、実験系 b では複合体の分子量が Fd 単量体の分子量の 100 倍を超える点が大きく異なる。この違いが下記のようなアーティファクトを生み出す可能性があった。</p> <p>^1H 核スピンの飽和を受け取る側の分子（両実験系においては Fd）は、安定同位体 ^{15}N, ^2H で標識されている必要があるが、その重水素化率は極めて 100% に近い値が要求される。しかし、実際には遺伝子組み換え大腸菌を培養中に水蒸気が混入したり、また、培地の試薬にすでに ^1H が混入していたりにより、最終的な蛋白質の側鎖には数パーセントの ^1H が混入することは避けられない。</p> <p>そこで、特に Ile, Leu, Val のメチル基に 3% の ^1H が混入したことを想定して、単量体と複合体との交換の系で TCS がどのような影響を与えるのかをシミュレートした。その結果、有意なアーティファクトが生じることが示唆された。そこで、TCS の結果からメチル基に空間的に近い箇所にあるアミド基の結果を省くことにより、より正確な相互作用部位を出すことに成功した。</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 29 年 5 月 19 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