

提出日：平成 29 年 5 月 9 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		NMR による 細菌性膜貫通型シグナル伝達蛋白質 pHtrII のナノディスク上での構造解析	
研究代表者	氏名	小澤 潔	
	所属機関名・部局名	大阪大学・基礎工学研究科	
	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="checkbox"/>	超高磁場NMR 共同利用研究課題
		<input type="checkbox"/>	クライオ電子顕微鏡共同利用研究課題
		<input type="checkbox"/>	客員フェロー
蛋白研受入担当教員名		藤原敏道	
<p>安定化が難しい膜蛋白質の大量発現系の構築、そして天然状態に近い形での溶液核磁気共鳴装置 (NMR) による構造解析を可能にするために、光走性シグナル伝達蛋白質 (pHtrII) をナノディスク膜 (不溶性蛋白質を膜骨格蛋白質である MSP1 のベルトによって囲み、天然に近いリン脂質二重膜構造をとるナノ構造体) 上に再構成し、重水素による安価で効率的な pHtrII の大腸菌無細胞蛋白質合成系による安定同位体標識法を確立した。これにより、pHtrII の安定同位体標識試料を調製した後、ナノディスク膜上に再構成し、溶液 NMR による直接シグナル観測を試みることに成功した。その結果、pHtrII は、pH7.0 ではほぼすべて、可溶性の凝集体となっており、ゲルろ過カラムではボイドボリュームに溶出するが、pH6.5 では、少なくとも 1 ヶ月程度は 4°C から室温状態で安定に分散しており、溶液 二次元 NMR シグナルの構造情報から、pHtrII が、ナノディスク膜上で、きちんとしたフォールドを持って存在していることがわかった。それにより、今後、特に X-線結晶解析の苦手とする膜蛋白質のフレキシブルなループ領域のアミノ酸の役割を明らかにすることを目的として、二次元 NMR シグナルの帰属を進めるための条件が整った、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 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