

提出日：2019年 5月 17日

平成 30 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	組み換え蛋白質を用いた難溶蛋白質凝集体可溶化の方法開発		
研究代表者	氏名	櫻井一正	
	所属機関名・部局名	近畿大学・先端技術総合研究所	
	職名	准教授	
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	蛋白質構造生物学部門 後藤祐児教授		
<p>天然の蛋白質がミスフォールディングして生体内でアミロイド線維などの不溶性凝集体を形成し、アルツハイマー病、透析アミロイドーシスなど、さまざまなアミロイドーシスの原因となることが知られている。これら不溶性の凝集体を阻害することがこれらの疾病の予防や治療につながると考えられる。我々はある蛋白質を用いることで、これらの凝集体を可溶化する方法を考案した。ある蛋白質とは、ひとつはモノボディという、特定のターゲットに強く結合する性質を付与された人工蛋白質である。モノボディが β_2m に結合すると線維形成を阻害することが分かっていることから、β_2m-モノボディ複合体の構造解析を行い、線維形成阻害機構の理解を目指した。もうひとつはアンフォルジンという、アクチンなどの巨大な重合蛋白質を可溶化する能力を持つ酵母由来の蛋白質である。この蛋白質を利用した難溶蛋白質凝集体の可溶化法の確立が最終目標であるが、そのための実験に供する試料の、大腸菌による大量調製法の確立を目指している。</p> <p>モノボディに関しては、平成 27 年度にドッキングシミュレーションによって得られた候補の構造から絞り込むため、部位特異的修飾試料を用いた常磁性緩和促進や残余双極子カップリングといった種々の NMR 実験を行った。その結果、もっともらしいと思われる候補構造を決定することができた。今後は構造リファインメントを行い、決定構造の報告を目指す。</p> <p>アンフォルジンに関する研究は、大腸菌発現によって得られる封入体からリフォールディングさせる条件を検討してきた。平成 29 年度までに、添加剤存在下、独自の自動透析装置を用いることで従来よりも高い再現性で活性が得られる方法を見出したが、低収量という問題があった。そこで平成 30 年度中にゲルろ過法による方法を用いると、高収量で折り畳み試料を得られるということがわかった。今後、この結果を基に解きほぐし活性を得るための条件検討を行いたい。</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：令和元年 5 月 17 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