

(様式 1-2)

提出日：2021 年 4 月 30 日

2020 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	常磁性効果を用いた高分子量タンパク質複合体の立体構造解析	
研究代表者	氏名	石森 浩一郎
	所属機関名・部局名	北海道大学大学院理学研究院
	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	宮ノ入 洋平 准教授	
<p>タンパク質間の弱く動的な相互作用によって形成される過渡的複合体は、電子伝達、タンパク質フォールディング・分解など、様々な生命活動に置いて重要な役割を担うが、その詳細なメカニズムは多くの場合、謎に包まれている。その主要な要因として、タンパク質間の弱く動的な相互作用が挙げられ、このような相互作用は、X線結晶構造解析やクライオ電子顕微鏡測定時に複合体の解離を招き、その立体構造解析を困難にする。一方、溶液中の分子を原子分解能で観測する溶液 NMR 法は、動的な分子の解析に優れるものの、30 kDa を超えるサイズのタンパク質に対する解析は困難である。本研究では、常磁性プローブや重水素標識、メチル選択的標識などの NMR 法において高分子量タンパク質の構造解析を可能とする技術を駆使することにより、従来の分子量の限界を乗り越え、過渡的に形成されるタンパク質複合体の立体構造解析に取り組んできた。</p> <p>2020 年度は特に、タンパク質分解に関与するトリガーファクター (TF) シャペロンと ClpX シャペロンの相互作用についての解析を進めた。具体的には、相互作用に関与する領域を特定するために、NMR による相互作用解析を行った。TF および ClpX の安定同位体標識試料を調製し、NMR 測定を行った。TF と ClpX は、いずれも複数の構造ドメインから構成されるマルチドメインタンパク質であるため、全長試料に加えて、ドメインを分割した試料についても作製し、ドメインごとの相互作用を評価した。その結果、TF および ClpX 上の複数の領域を用いた多点での相互作用によって複合体が形成されていることが明らかになった。さらに、TF 上の結合サイトの一部は、基質タンパク質の認識にも使われていることが示唆され、TF-ClpX 複合体における基質タンパク質の受け渡しメカニズムの一端が明らかになった。この研究成果については、カナダ トロント大学との共同研究の成果の一部として、論文発表を行った (Rizzolo et al. 2021 <i>Nat. Commun.</i>)。</p> <p>今後は、過渡的タンパク質複合体の例として、他のシャペロン複合体、および電子伝達複合体についての構造解析・相互作用解析を進める。</p>		