

2021 年度 大阪大学蛋白質研究所 拠点事業

研究成果報告書

(1) 事業名 (下記より該当事業名を選択し、ほかは削除して下さい。)

超高磁場 NMR

(2) 研究代表者

氏名：長尾 聡

所属機関名・部局名・職名：兵庫県立大学・大学院理学研究科・特任助教

(3) 研究課題名 (申請時に記載したものと同一課題名を記入して下さい。)

脂質膜や金属が関与するタンパク質構造形成の溶液 NMR 解析

(4) 蛋白質研究所受入担当教員

教員名：宮ノ入 洋平 (研究室名：高磁場 NMR 分光学研究室)

(5) 研究成果の概要 (公開)

シトクロム *c* はミトコンドリア内に存在する表在性膜タンパク質であり、生命活動のエネルギー供給源となる ATP 合成を担っている呼吸鎖のシトクロム *c* オキシダーゼ (複合体 IV) に電子を供与する役割をもっている。一方で、シトクロム *c* は細胞死のアポトーシスを開始するタンパク質としても知られている。上述の通り、シトクロム *c* は細胞の生と死の両方に関わっているが、未だその機能の制御機構は未解明である。シトクロム *c* は分子量約 12 kDa の単量体のヘムタンパク質であり、構造が安定であるためシトクロム *c* だけの構造を NMR で調べるのは比較的容易である。しかし、シトクロム *c* が膜結合した状態やシトクロム *c* オキシダーゼと複合体を形成した状態などは分子量が非常に大きいため、NMR による解析が非常に困難となる。

本研究では、膜結合したシトクロム *c* の溶液 NMR シグナルを感度良く観測するため、分子サイズが非常に小さく、様々な組成の脂質膜が形成可能なバイセルを用いて、シトクロム *c* が膜結合した際の動的な構造変化について NMR 解析を行っている。これまで、バイセル中の長鎖脂質として負電荷リン脂質のジミリスチルフォスファチジルグリセロール、短鎖脂質として中性リン脂質のジヘキサノイルフォスファチジルコリンを用いた場合、膜結合したシトクロム *c* が部分変性構造をとることを明らかにした。この膜結合したシトクロム *c* の NMR シグナル帰属のため、本実験ではアミノ酸主鎖のカルボニルの炭素のみ ^{15}N 標識した様々な選択的アミノ酸 ^{15}N 標識シトクロム *c* を作製し、それらの HSQC スペクトル測定を行った。さらに、構造変性を起こしている領域の NMR シグナルの連鎖帰属を HNCOC、HNCACO 測定を行うため、均一 ^{13}C , ^{15}N 標識シトクロム *c* も作製した。今後は、膜結合状態にあるシトクロム *c* の三次元 NMR 測定を行い、変性領域に観測されているすべてのシグナルの帰属を目指す。