

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。)

共同研究員

(2) 研究代表者

氏名：朽尾豪人

所属機関名・部局名・職名：京都大学・大学院理学研究科・教授

(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。)

シグナル伝達タンパク質の動的構造解析

(4) 蛋白質研究所受入担当教員

教員名：藤原敏道 (研究室名：機能構造計測学研究室)

(5) 研究成果の概要 (公開)

本課題では溶液 NMR を利用した膜受容体タンパク質や細胞内シグナル伝達タンパク質の解析を行った。膜受容体としては、神経ペプチドの受容体と生理活性脂質の受容体について、リガンドとの相互作用に伴う状態変化に関する知見を得ることを目的とする。それぞれをメチオン特異的に  $^{13}\text{C}$  標識し、アポ体の他、アンタゴニストとアゴニストの結合状態でメチル TROSY スペクトルを測定した。その結果、結合に伴うスペクトル変化が見られた。

シグナル伝達に関わるタンパク質としては、直鎖型ユビキチン(Ub)鎖の解析を行なった。Ub 鎖は複数種類あるが、直鎖型は免疫や炎症のシグナル伝達系に関わっている。溶液中での Ub 鎖の構造アンサンブルや、結合タンパク質との相互作用解析を目的として研究を行なった。ジユビキチン(Ub<sub>2</sub>)の一方の Ub にランタノイドを導入し、それが他方の Ub の NMR スペクトルに及ぼす常磁性効果を測定した。得られたデータに基づいて、Ub<sub>2</sub> の構造アンサンブルを推定した。さらに、Ub<sub>2</sub> に結合するタンパク質との複合体中で同様の常磁性 NMR 測定を行ない、複合体中の Ub<sub>2</sub> の構造アンサンブルを調べた。その結果、溶液中では、X 線結晶解析によって報告されている構造とは異なる結合状態も存在することがわかった。

ある種の細胞内シグナル伝達経路には、液-液相分離(LLPS: liquid-liquid phase separation)現象が深く関わるということが明らかになっている。LLPS の発生とそれによる分子機能の調節機構を解明するため、LLPS を引き起こすタンパク質について NMR 測定を行なった。タンパク質主鎖の核スピン緩和時間を測定し、LLPS の発生に重要な残基近傍のダイナミクスを解析した。