

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：島 扶美

所属機関名・部局名・職名：神戸大学・大学院科学技術イノベーション研究科・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。)

固体 NMR による低分子量 G 蛋白質 Ras の微結晶中での GTP 分解反応過程の反応速度論解析並びに構造解析

(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)

ras がん遺伝子産物 Ras 蛋白質は低分子量 G 蛋白質であり、GTP 結合型 Ras と GTP 加水分解により生じる GDP 結合型 Ras を行き来しながら、GTP 結合型 Ras が下流の標的分子と結合することで細胞の増殖やがん化シグナル伝達を調節している。また、GTP 結合型 Ras には標的分子との結合に不利な State 1 と標的分子との結合に有利な State 2 が平衡状態にあることが知られている。このような Ras 分子の常時活性型変異が、がん全体のおよそ 30% で認められることから、Ras はがん創薬の恰好のターゲット分子であり、Ras タンパク質を標的とした創薬研究は長年にわたり世界的に行われているが、未だ臨床上有効な Ras 標的がん治療薬の上市例は僅かしかなく、特に GTP 結合型 Ras を標的にした抗がん剤は上市されていない。このような Ras を標的とした創薬研究の障壁の一つは、既存の GTP 結合型 Ras の構造は、天然でない非加水分解性 GTP アナログ (GppNHp) を用いた構造であること、および State 1 (薬剤結合ポケットが開いた構造: Open form) と State 2 (薬剤結合ポケットが閉じた構造 Closed form) の 2 状態間の既存の構造情報は各々の静的構造であり、その構造ダイナミクスを十分に反映していないことにある。

そこで本研究では、天然型 GTP 結合型 Ras の GTP 加水分解反応過程の蛋白質構造変化を明らかにすることを目的として、光制御可能な caged-GTP を用いて、微結晶中の Ras 蛋白質の天然型 GTP の加水分解反応過程における固体 ^{31}P -NMR シグナルの経時変化を観測し、速度論的解析を行った。

2021 年度においては、コントロールサンプルとして、GppNHp 結合型 Ras の微結晶溶液を用い、 ^{31}P -CP-MAS 測定を実施し、NMR 条件を最適化し、決定された測定条件において caged-GTP 結合型 Ras の ^{31}P -CP-MAS 測定を行った。CP-MAS NMR 測定は、暗状態及び光照射後のおよそ 15 分から 48 時間までの様々なタイムポイントで行い、cage 離脱後の GTP 加水分解に伴う ^{31}P -NMR シグナルの時間変化を補足することに成功した。詳細は現在解析中であるが、得られた ^{31}P -NMR シグナルの経時変化から GTP 加水分解反応過程の構造変化に起因する特徴的な信号変化を見出している。

今後は光反応性の異なる別種の caged-GTP 等を用いて詳細な速度論解析を行うとともに、光照射後の蛋白質側の 2D 相関 NMR シグナル等の経時変化を観測することで、GTP 加水分解反応に伴うポケット領域の開閉運動、例えば Open form から Close form への構造変化などの詳細を明らかにする。