

2022 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：児嶋 長次郎

所属機関名・部局名・職名：横浜国立大学・大学院工学研究院

(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。)

超高感度 NMR を用いた生細胞内蛋白質の構造・機能解析

(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)

**\*背景および目的、方法と結果、について、公開して差し支えない範囲で 1 ページ以内で記載。**

(背景および目的) 代謝産物など生細胞内の物質を NMR で検出する手法 (in vivo NMR) は半世紀以上前から利用されているが、生細胞内の蛋白質を NMR で直接検出する技術 (in cell NMR) はこの 20 年ほどで開発されてきた比較的新しい手法である。本研究の目的は、ヒト生細胞内での蛋白質の静的な高分解能構造と動的な構造変化を解析する 2 つの生細胞内 NMR 技術を開発し、「ヒトの細胞内で働いている蛋白質の姿は我々の知る蛋白質構造と同じなのか？」という問いに答えることにある。具体的には、独自技術で超高感度化に成功した生細胞内 NMR 法を用いたヒト生細胞内蛋白質の高分解能構造解析技術を開発するとともに、ヒト生細胞内蛋白質の立体構造変化やリン酸代謝のリアルタイム計測技術を開発し、バッファー中での結果と比較する。蛋白質研究所の超高感度 NMR 装置群の利用は本研究の主軸をなす生細胞内 NMR の高感度検出に必須である。

(方法と結果) ①時間分解能の高い 2D  $^1\text{H}$ - $^{15}\text{N}$  HSQC スペクトルと 1D  $^{31}\text{P}$  スペクトルを用い、ヒト生細胞内の蛋白質の立体構造変化やリン酸代謝を分単位精度でリアルタイム検出する技術を確立し、細胞内の経時変化について高い時間分解能でのリアルタイム検出に成功した。また、細胞内小胞の酸性化過程を原子分解能、かつ、高時間分解能で明らかにすることに成功した。②バッファー中とヒト細胞中での立体構造や運動性の違いを明らかにすることを目指し、蛋白質間相互作用や蛋白質薬剤相互作用など分子間相互作用の違いについて解析を進め、バッファー中とヒト細胞中では立体構造に大きな違いがないこと、運動性に大きな違いがあることを明らかにした。また、蛋白質薬剤相互作用はバッファー中とヒト細胞中で類似しているものの明確な違いがあることも明らかにした。③蛋白質研究所に新しく導入された Insight MR を用いてフロー NMR 実験を行い、細胞の生理応答や薬剤結合過程をリアルタイムでモニターする技術の開発に取り組み、薬剤結合過程をリアルタイムでモニターすることに成功した。また、細胞を用いたフロー実験にも成功した。