

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。）

客員フェロー

(2) 研究代表者

氏名：岩田想

所属機関名・部局名・職名：京都大学大学院医学研究科・分子細胞情報学・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。）

クライオ電子顕微鏡を用いた創薬ターゲット膜タンパク質の構造解析

(4) 蛋白質研究所受入担当教員

教員名：加藤貴之（研究室名：電子線構造生物学研究室）

(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。**

当研究室では、これまで創薬に貢献可能な膜タンパク質を中心に多くの構造を明らかにしてきた。特に、G タンパク質共役受容体（G protein-coupled receptor; GPCR）は創薬標的として有望な膜タンパク質であるため、これらの構造研究に最も注力してきた。また GPCR 以外にも、ウイルス粒子が宿主細胞内へ侵入する際に利用する膜タンパク質の構造からそのエントリー機序の一端を解明することに成功した。また医薬品として上市されている抗体とその標的分子の複合体の構造から上市薬の作用機構を解明するなど創薬に直結する構造研究を行ってきた。

これまでに、3 量体 G タンパク質が共役したアゴニスト結合型 GPCR の構造を複数決定できた。これらは GPCR、3 量体 G タンパク質構成タンパク質である $G\alpha$ 、 $G\beta$ 、 $G\gamma$ 、そして $G\alpha$ の種類に応じて NB35、scFV16 をまとめて Sf9 昆虫細胞に感染させる共発現法により発現させた。GPCR はその N 末に付加した His タグによるアフィニティー精製、およびゲル濾過法による GPCR-3 量体 G タンパク質複合体での精製を行い、cryo-EM 測定に用いた。これらのサンプルは、予め 200kV cryo-EM でサンプルの品質チェックを行っており、蛋白質研究所の 300kV での測定時には構造決定を目的とした長時間測定用のセットアップに特化した測定を行った。その結果、非常に効率よく 300kV での測定が行えており、これが複数の構造決定に寄与したと考えられる。

また、GPCR のアンタゴニスト結合型の構造決定に有用な抗体をいくつか樹立することに成功した。これらの抗体を用いた測定を開始しており、これまで cryo-EM 単粒子解析法では分子量のため構造決定することが難しかった不活性型 GPCR の構造決定が可能となりつつある。また、GPCR 以外にも cryo-EM を用いたデータ収集を行っており、これらについても近く構造決定したいと考えている。