

2023 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。）

クライオ電子顕微鏡

(2) 研究代表者

氏名：村木則文

所属機関名・部局名・職名：慶應義塾大学・理工学部・准教授

(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による新規センサー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：栗栖源嗣（研究室名：蛋白質結晶学研究室）

(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。

研究代表者らは生物の生体内恒常性維持機構にかかわる様々なセンサータンパク質を対象として、構造機能研究を展開している。生物はセンサータンパク質を用いて細胞内外の環境の変化を感知して、物質の取り込みや排出、物質生産などのさまざまな応答を示す。このようなセンサータンパク質からつながるセンサーネットワークのメカニズムの解明は生命の根幹を理解するための重要な課題であると位置付けられる。本研究では、新規なセンサータンパク質を対象に原子分解能で構造を決定することでセンサー駆動機構の解明を目指している。これまでに結晶構造解析法による構造決定をおこなってきたが、センサータンパク質には溶解度が低いことやマルチドメインであることが原因で結晶化が困難な試料が多い。そこで、クライオ電子顕微鏡を用いることで、これまで結晶構造解析が困難であったセンサータンパク質の構造解析に取り組んでいる。

全長型の新規センサータンパク質についてクライオグリッドを作成し、TallosArctica を用いてスクリーニングを行った。良質なグリッドを選別して TitanKrios において測定を行なったが、全長の構造決定は困難だった。その原因として、N 末端ドメインがフレキシブルであることがわかった。そこで、N 末端ドメイン欠損型のセンサータンパク質を設計して、大腸菌発現系を用いて調製したところ、発現量や溶解度に改善が見られた。現在、N 末端ドメイン欠損型タンパク質の結晶化およびクライオ電子顕微鏡測定を目指している。