

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。)

超高磁場 NMR

(2) 研究代表者

氏名：森本 大智

所属機関名・部局名・職名：京都大学・大学院工学研究科・

(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。)

細胞内環境におけるタンパク質の構造変化の原子レベル解析

(4) 蛋白質研究所受入担当教員

教員名：宮ノ入 洋平 (研究室名：高磁場 NMR 分光学研究室)

(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。**

タンパク質の高次構造は溶液中で常に揺らいでいる。この構造揺らぎはタンパク質の機能発現に重要であり、生体機能制御や疾患発症に深く関わっている。これまで、希薄溶液中の構造揺らぎは数多く研究されてきたが、構造揺らぎに対する細胞内の混雑環境の影響や、原形質流動などの細胞内の流れの影響は研究が進んでおらず、よくわかっていない。研究が停滞する理由の一つに、既存の溶液 NMR 法では細胞内環境におけるタンパク質の動態測定が困難であることが挙げられる。本研究グループはこれまでレオロジー NMR 法などの新規 NMR 方法論を開発し、混雑環境が化学平衡に影響を与えることや、流れがタンパク質構造に摂動を与えることを明らかにしてきた。真にタンパク質の構造揺らぎを理解するためには細胞内環境におけるその場観察が不可欠であり、本研究では独自に開発した方法論を用いて、シグナルタンパク質やアミロイド形成タンパク質の動態をその場を原子レベルで解明することを目指している。

2023 年度は、ヒト細胞内に存在する環状タンパク質 (Lys48 結合型環状ジユビキチン、以下環状ジユビキチンと称す) を高純度かつ大量に試料調製し、未だよくわかっていない環状タンパク質の動的な構造特性を詳細に調べた。まず、本グループが構築した ^{15}N 横緩和分散法を用いて生理条件下で実験したところ、環状ジユビキチンは顕著な緩和分散プロファイルを示し、マイクロ秒からミリ秒の構造揺らぎを持つことが分かった。さらに、粗視化分子動力学シミュレーションにより環状ジユビキチンの動的な構造プロファイルを調べたところ、環化によってジユビキチンが本来持つナノ秒スケールのユビキチンユニットの開閉運動が遅くなることを見出された。そこで、100 マイクロ秒間における環状ジユビキチンの二つのユビキチンユニット同士の距離データを、過去の結晶構造解析の結果を基に、オープン状態とクローズ状態のバイナリデータとして変換し、自己相関関数解析することにより、開閉運動の周期性を解析した。その結果、環化により開閉運動が顕著に抑制され、周期の減少程度は核磁気共鳴法による緩和分散実験結果とよく相関していることがわかった (Sorada, et al. Protein Sci, 2023, 32(10), e4768)。