

(様式 1-1)

提出日：2025 年 月 日

2024 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、ほかは削除してください。）

超高磁場 NMR

(2) 研究代表者

氏名：北原亮

所属機関名・部局名・職名：立命館大学・薬学部・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ください。）

高圧 NMR 法による生体高分子の構造とダイナミクスの研究

(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 分光光学研究室）

(5) 研究成果の概要

これまで圧力が球状タンパク質のコンフォメーション平衡を変化させる例を数多く示した。近年、タンパク質の液液相分離(LLPS)においても、多様な状態が存在することを圧力濁度測定により見出した。圧力ジャンプ濁度測定法により LLPS の形成と消失の速度定数を解析する手法を開発した。本研究では、タンパク質の LLPS 形成を超高磁場を用いた高圧力 NMR 法により解析することを最重要課題とした。このほか、2023 年度に本事業により測定したジスルフィド結合形成酵素 DsbA と RNA の圧力応答研究について、学術論文投稿に向けて解析と論文執筆を行った。

- (1) DsbA は、抗菌薬の重要な創薬ターゲットである。DsbA は、ユビキノンを介した酸化型と還元型のサイクルにより、標的タンパク質のジスルフィド結合を正しく組み替える。これの欠損により細菌の動能力・付着力・毒性の低下が確認されている。高圧力 NMR 法の結果から、活性中心において、構造揺らぎが酸化型還元型ともに確認された。この構造のゆらぎは、横緩和分散法においても確認されている。また、この構造揺らぎは進化的に保存されていた。リガンド結合は、この構造ゆらぎを抑制することが明らかになった。現在、本内容を取りまとめ学術論文の執筆中である。
- (2) LLPS は、タンパク質の高濃度凝縮体である液滴を形成し、生体システムの恒常性を保つのに活かされている。しかしながら、神経変性疾患においては、液滴状態を介した異常凝集物の形成が報告されており、疾患発病に関与していると考えられている。 α -synuclein は、液滴の形成とそのパーキンソン病との関与が報告されている。我々は、はじめに液滴形成条件の詳細な探索を行った。常温常圧下で液滴形成した α -synuclein の NMR 測定および信号帰属を行った。時間依存的な NMR 測定により、新鮮な状態では観測されなかった信号が観測された。現在、LLPS 形成のさらなる解析のため、測定条件の検討を行っている。
- (3) 近年 mRNA は創薬の標的として注目されている。フルオロキノロン化合物誘導体との結合は、バルジ近傍のイミノプロトンの化学シフト変化が、中央塩基対領域では、水素結合の圧縮を示す低磁場シフトの傾向が強まった。一方で RNA ヘアピンの末端領域では、水素結合の伸長による高磁場シフトの傾向が強まった。RNA の圧力応答に関する研究の報告例はあるが、NMR による詳細な構造変化の解析例はないため、学術論文として準備している（千葉工業大との共同研究）。