

提出日：2019年 5月 17日

平成 30 年度 大阪大学蛋白質研究所 拠点事業

(2) 研究成果の概要

課題名	NMR による細胞内タンパク質および膜タンパク質の構造解析		
研究代表者	氏名	朽尾豪人	
	所属機関名・部局名	京都大学・大学院理学研究科	
	職名	教授	
事業名 (該当の事業名の右欄に○)	<input type="radio"/>	共同研究員	
	<input type="radio"/>	超高磁場NMR 共同利用研究課題	
	<input type="radio"/>	クライオ電子顕微鏡共同利用研究課題	
	<input type="radio"/>	客員フェロー	
蛋白研受入担当教員名	藤原敏道		
<p>昨年度より引き続き、常磁性タグを使った in-cell NMR による立体構造変化の検出を目指し、タンパク質試料の調製と試験管溶液中での測定・解析を行った。昨年度ランタニドを導入した位置とは異なる位置への導入を検討した。その結果、高い導入効率が得られる位置を見出した。また、十分大きな PCS(pseudo contact shift)を観測することができた。これにより、2セットの PCS データを取得することが可能となった。今後、PCS と残余双極子結合に基づいて、溶液中での当該タンパク質の構造アンサンブルを求める。また、そのアンサンブルに細胞内環境がどのように影響するかを調べる予定である。</p> <p>LLPS(liquid-liquid phase separation)を引き起こすことが知られている、ある RNA 結合タンパクの IDP(天然変性)領域の溶液 NMR 解析を行った。通常の緩衝液条件ではランダムコイルをとっていたが、LLPS を誘起する条件下では NMR 信号は激しく広幅化した。また、同試料の ^{15}N スピン緩和実験から IDP 中の複数の領域において運動性が有意に低いことを見出した。これら領域が LLPS の発動に関わっていると考えられることから、変異体を作成し、詳細な解析を進める予定である。</p> <p>ペプチドホルモンの膜受容体の NMR 解析を行った。昆虫細胞を用いた発現系で ^{13}C-メチオニンを導入した受容体試料を調製し、^1H-^{13}C HMQC スペクトルを測定したところ、メチル基の NMR 信号を観測することに成功した。また、リガンドの種類に依存して、交差ピークがシフトすることを確認した。今後、メチオニンを他のアミノ酸に置換した試料を作成し、上記交差ピークの帰属を進めるほか、各種のアゴニストやアンタゴニストを添加して NMR スペクトルの変化を調べ、構造変化を解析する。また、別のアミノ酸の安定同位体標識も試みる予定である。</p>			

※本様式は、“拠点事業成果報告”として、拠点ホームページにて公開させていただく予定です。

※必ず A4 用紙 1 枚におさめて下さい。 ※提出期限：令和元年 5 月 17 日（金） ※提出の際は PDF 変換して下さい。

※提出先：大阪大学蛋白質研究所拠点プロジェクト班 E-mail: tanpakuken-kyoten@office.osaka-u.ac.jp