

提出日：平成 29 年 5 月 19 日

平成 28 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	組み換え蛋白質を用いた難溶蛋白質凝集体可溶化の方法開発		
研究代表者	氏名	櫻井一正	
	所属機関名・部局名	近畿大学・先端技術総合研究所	
	職名	准教授	
事業名 (該当の事業名の右欄に○)	○	共同研究員	
		超高磁場NMR 共同利用研究課題	
		クライオ電子顕微鏡共同利用研究課題	
		客員フェロー	
蛋白研受入担当教員名	蛋白質構造生物学部門 後藤祐児教授		
<p>近年、天然の蛋白質がミスフォールディングして生体内でアミロイド線維などの不溶性凝集体を形成し、アルツハイマー病、透析アミロイドーシスなど、さまざまなアミロイドーシスの原因となることが知られている。これら不溶性の凝集体を阻害することがこれらの疾病の予防や治療につながると考えられる。我々はある蛋白質を用いることで、これらの凝集体を可溶化する方法を考案した。ある蛋白質とは、ひとつはモノボディという、特定のターゲットに強く結合する性質を付与された人工蛋白質である。モノボディが β_2m に結合すると線維形成を阻害することが分かっていることから、β_2m-モノボディ複合体の構造解析を行い、線維形成阻害機構の理解を目指した。もうひとつはアンフォルジンという、アクチンなどの巨大な重合蛋白質を可溶化する能力を持つ酵母由来の蛋白質である。この蛋白質を利用した難溶蛋白質凝集体の可溶化法の確立が最終目標であるが、そのための試料確保のため、大腸菌によるアンフォルジンの発現系の確立を目指した。</p> <p>モノボディに関しては、27 年度にドッキングシミュレーションによって得られた候補の構造からさらに一つに絞り込むため、常磁性緩和促進という実験を行った。Mn^{2+} 存在下、非存在下で 2 次元 HSQC スペクトルを取得し、そのシグナル強度変化を計算し、各候補の立体構造上にマッピングした。その結果、一部の候補に絞り込むことができた。さらに唯一の構造に絞り込むため、今後は部位特異的修飾試料を用いた常磁性緩和促進を行いたい。</p> <p>アンフォルジンに関する研究は、これまでの結果から、大腸菌により大量発現はするものの、封入体となってしまいうためリフォールディングをさせることが必須であることが分かっていた。このリフォールディング時に、分子間で凝集しやすいという問題が残っていたため、各種界面活性剤を添加しそれらの効果を検討した。その結果、CTAB 存在下で正しいモノマー構造に折り畳むことが分かった。しかし、解きほぐし活性の確認には至っておらず、その活性に必須の多量体化は達成できていないと考えられる、今後は多量体化の条件検討を進めたい。</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：平成 29 年 5 月 19 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