

提出日：平成 29 年 5 月 8 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	動物細胞発現系を用いた 1 回膜貫通型受容体の発現と構造機能解析		
研究代表者	氏名	禾 晃和	
	所属機関名・部局名	横浜市立大学・大学院生命医科学研究科	
	職名	准教授	
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	高木 淳一		
<p>本課題では、シグナル伝達に関わる 1 回膜貫通型受容体を取り上げ、細胞外リガンドの認識と受容体活性化の分子機構を解明することを目的として、動物細胞を用いたタンパク質試料の調製と構造機能解析に取り組んだ。1 回膜貫通型受容体の中でも、特に、脳・神経の発生や細胞増殖に関わる受容体とその細胞外リガンドを取り上げた。</p> <p>神経発生を制御する受容体とリガンドとなる細胞外シグナル伝達タンパク質との間で形成される解離速度の速い一過性かつ低親和性の相互作用の検出を行うため、受け入れ先研究室との共同研究によって、受容体分子の末端に部位特異的にビオチンを導入し、ストレプトアビジンを固定化したセンサーチップに結合させる実験系の構築に取り組んだ。ビオチンの導入に際しては、標的タンパク質とビオチンリガナーを単一ベクターから共発現することで、実験系の簡略化を行った。調製したタンパク質試料を用いて、表面プラズモン共鳴法による相互作用解析を行った結果、従来は、受容体とリガンドの結合特異性に関してあらたな知見が得られた。</p> <p>脳の層構造形成に関わる受容体 ApoER2 と細胞外シグナル分子リーリンの研究に関しては、決定した複合体の X 線結晶構造に基づいて相互作用解析を詳細に行ったことで、特異的な分子認識の仕組みや細胞内に取り込まれた後のリガンド解離の仕組みが明らかになった。ApoER2 は、脂質代謝に関わる受容体である LDLR の近縁のホモログであり、本研究の成果は、LDLR ファミリーの受容体によるリポタンパク質の取り込みの仕組みを理解する上でも非常に重要な情報となると期待される。一連の成果については、EMBO reports 誌に論文を投稿し、3 月に正式に受理された。</p> <p>また、受け入れ研究室との共同研究で確立した動物細胞を用いた受容体タンパク質の試料調製のプロトコルに関する記事が Methods in Molecular Biology に掲載された (Immunoaffinity Purification of the Glycosylated Extracellular Fragment of Mouse Plexin A2 Produced in a Mammalian Expression System. Nogi T, Mihara E, Yasui N and Takagi J. <i>Methods Mol Biol.</i> (2017) 1493, 57-72.)。</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