

提出日：平成 28 年 5 月 20 日

平成 27 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	固体 NMR スペクトルシミュレーションによる非晶質タンパク質構造解析		
研究代表者	氏名	池田 恵介	
	所属機関名・部局名	富山大学大学院医学薬学研究部（薬学）	
	職名	助教	
事業名 (該当の事業名の右欄に○)	<input type="radio"/>	共同研究員	
	<input type="radio"/>	国際共同研究課題	
	<input type="radio"/>	超高磁場 NMR 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>固体 NMR 法は、凝集沈殿物や脂質二重膜中のタンパク質など、溶液や結晶状態にないタンパク質の立体構造解析が可能な方法として、急速に発展している測定法である。しかし、測定感度とスペクトル分解能の低さによる信号のノイズやオーバーラップのために、構造決定に十分な構造制限情報を得るのには技術的な困難を伴っている。これまでに我々は、固体 NMR 法によるタンパク質構造解析法として、計算科学を利用した新規の NMR スペクトル解析法にもとづく構造決定法の開発をおこなってきた。主鎖二面角等のタンパク質構造パラメータ空間のサンプリング、タンパク質 NMR データベース情報および固体 NMR スペクトルフィッティング計算を組み合わせることで、感度と分解能の低い固体 NMR スペクトルから効率的に二次構造情報を取り出すことが可能であることを明らかにした。さらに、二次構造だけでなく、三次構造モデルの決定にも応用可能であることを示しつつある。本共同研究では、これまでに開発してきたスペクトル解析法の適用範囲について評価をおこない、本手法の重要なターゲットである膜タンパク質およびアミロイド線維について、分子複合体中のタンパク質立体構造の決定を目指して研究をおこなった。</p> <p>まず、本スペクトル解析法のテストを様々なタンパク質について行った。これまでに、^{13}C 化学シフト値がデータベース上に公開されている 559 個のタンパク質について、計算スペクトルを作成し、これに対して我々が開発した解析法でフィッティングし、^{13}C 化学シフト値および二次構造の推定をおこなった。結果、$^{13}\text{C}^\alpha$, C^β, C^γ ケミカルシフト値を 1.40 ± 0.43 ppm、二次構造を $81 \pm 9\%$ の精度で決定できることが明らかとなった。さらに、この予測シフト値をフラグメントアセンブリーに基づくタンパク質立体構造予測法である CS-ROSETTA のインプットとして用いて、三次元構造の予測をおこなった。二次構造予測精度が高いタンパク質では、正解構造により近い構造をサンプリングできることが明らかとなった。一方で、ケミカルシフトの推定精度の低いタンパク質では、立体構造予測精度が低下した。また、スペクトル解析から得られたケミカルシフト推定値の誤差を考慮し、フラグメント構造探索を行うことによって、予測三次元構造の精度が向上することも明らかにした。</p>			