

(様式 1-2)

提出日：2020 年 4 月 10 日

2019 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		Rheo-NMR による生体高分子の動的構造解析
研究代表者	氏名	菅瀬 謙治
	所属機関名・部局名	京都大学・大学院工学研究科
	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		宮ノ入 洋平
<p>Rheo-NMR とは、NMR 試料を回転攪拌することによって剪断流（速度勾配のある層流）を発生させながら NMR 測定を行える装置で、剪断流が分子に対する影響を調べられる。従来の Rheo-NMR は感度が低いため低分子やポリマーなどのユニット構造のシンプルな物質の研究に限られていたが、当研究室では、世界に先駆けてクライオプローブと併用できる超高感度 Rheo-NMR 装置を開発した。そして、同装置を用いて、流体力学的な剪断力存在下におけるタンパク質の動的構造の変化を解析することに成功した。同装置を用いるとアミロイド線維化過程をリアルタイムにモニターすることも可能である。2018 年度に貴研究所の宮ノ入准教授と共同して、貴研究所の 950MHz NMR と 800MHz NMR でも Rheo-NMR 装置をセットアップした。</p> <p>当初、測定対象には SOD1、ダイユビキチン、<math>\alpha</math> シヌクレインはアミロイド線維化するタンパク質を予定した。これらのタンパク質は、すでに当研究室において Rheo-NMR 測定を行っている。この測定の中で、アミロイド線維化過程における中間状態をマイナーピークとして観測している。そのようなマイナーピークを感度良く 950MHz または 800MHz の Rheo-NMR で解析することを計画した。</p> <p>実際には、2019 年度における Rheo-NMR 測定は <math>\alpha</math> シヌクレインのアミロイド線維化過程の解析に、800 MHz を使用しただけだった。剪断流を Rheo-NMR で発生させながら、<math>^1\text{H}</math>-<math>^{15}\text{N}</math> HSQC を連続測定した。結果としては、マシンタイムが十分に長くなかったため、アミロイド線維化が完了する前に測定を終えることになった。他には、当初予定していなかった HOIL-1L とダイユビキチンの相互作用に関する <math>R_2</math> dispersion 測定や、ATP とユビキチンの相互作用に関する <math>^{31}\text{P}</math>-NMR 測定などを実施した。前者の <math>R_2</math> dispersion 測定については良好なデータを取得することができ、現在、解析と論文執筆を進めている。後者の <math>^{31}\text{P}</math>-NMR 測定では相互作用に起因する化学シフト変化を期待したが、相互作用が弱すぎるため期待したデータを得ることができなかった。</p> <p>過去 2 年間、同じ課題を継続しているが、この経験から、通常は当研究室で NMR 測定を行い、必要なときに貴研究所の NMR をピンポイントで使用させていただくというのが、実際的であると分かった。今後も同様な形態で NMR を使用させていただきたい。</p>		