

提出日：2019 年 4 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	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 とは攪拌しながら NMR 測定を行うことができる装置のことで、流体力学的な剪断力が分子に対する影響を調べられる。当研究室では、世界に先駆けてクライオプローブでも測定できる超高感度 Rheo-NMR 装置を開発し、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できる。</p> <p>研究代表者は、平成 30 年度に、まず蛋白研フェローとして、貴研究所の 950MHz NMR と 500MHz NMR に開発した高感度 Rheo-NMR 装置を設置した。超高磁場 NMR 共同利用の研究活動としては、この 950MHz Rheo-NMR を用いて、パーキンソン病に関連する <math>\alpha</math> シヌクレインが剪断力によってアミロイド線維化していく過程をリアルタイムに解析した。<math>\alpha</math> シヌクレインの二次元 <math>^1\text{H}-^{15}\text{N}</math> 相関スペクトルでは、シグナルが極めて混み合うため 950MHz NMR の高い分解能に期待したが、そもそも、<math>\alpha</math> シヌクレインの調製が不十分であったため期待したほどの高分解能なスペクトルは得られなかった。しかし、得られたスペクトルを細かく解析すると、経時変化と共に新しいシグナルが生じていた。また、シグナル強度の経時変化をプロットしたところ線維化の初期にシグナル強度が指数関数様に減少するといった奇妙な変化が観察された。この新しく出現したシグナルや奇妙なシグナル強度の減少は、既存の <math>\alpha</math> シヌクレインの研究では捉えられていない状態変化であることが期待される。現在では <math>\alpha</math> シヌクレインの調製法が確立したため、再度、950MHz Rheo-NMR で測定を行いたい。一方、500MHz Rheo-NMR では 950MHz NMR では測定できない多核 NMR 測定も実施できるため、その特性を生かして、アミロイド線維に特異的に結合する <math>^{19}\text{F}</math> 含有化合物の解析を行った。当初は、Rheo-NMR の中で形成されていくアミロイド線維と化合物とのリアルタイム相互作用解析を計画していたが、用いた化合物の水への溶解度が極めて低かったため、予定していた実験は残念ながら実施できなかった。他にも、FKBP12、ダイユビキチン、SOD1 の <math>R_2</math> dispersion を測定し、それぞれで良好なデータが得られた。</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