(様式 1-2)

提出日：2020 年 5 月 2 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		CD28 結合に伴う SH2 と Ca ²⁺ 結合に伴う PET 分解酵素 Cut190 の各構造変化の解析
研究代表者	氏名	織田 昌幸
	所属機関名・部局名	京都府立大学・大学院生命環境科学研究科
	職名	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>T 細胞シグナル伝達に関わる CD28 受容体は、その細胞内領域の Tyr がリン酸化され、アダプター蛋白質の SH2 と結合し、さらに下流へとシグナルを伝達する。本研究では、この SH2 の 1 つ、phosphoinositide 3-kinase (PI3K) の N 端側の SH2 (nSH2) を対象に、NMR シグナル帰属を行い、さらに ¹H-¹⁵N NOE, ¹⁵N T₁, ¹⁵N T₂ 測定を行った。その結果、CD28 ペプチド非存在下において、残基番号 365 付近は、¹H-¹⁵N NOE, ¹⁵N T₁ で、他の領域より小さな値を示し、高い柔軟性が示唆され、また残基番号 365 付近と C 末端付近は、¹⁵N T₂ でも、他の領域より値が小さいことから、μs - ms の揺らぎの存在が示唆された。一方、CD28 ペプチド存在下において、残基番号 365 付近は、¹H-¹⁵N NOE, ¹⁵N T₁ の値が上昇し、他の領域と同程度になったことから、CD28 結合により、柔軟性が抑えられたと考えられる。また残基番号 365 付近の ¹⁵N T₂ は、依然、少し速く、C 末端は上昇したことから、365 付近は、交換過程が存在し、C 末端は、CD28 結合により交換が抑えられたと考えられる。これらの結果は、CD28 結合に伴う化学シフト変化の結果とも一致し、CD28 結合に関する動的挙動として新たな知見が得られたと考えられる。なお一連の成果は、現在、論文投稿準備中である。</p> <p>一方、PET 分解酵素 Cut190 について、¹⁵N ラベル化試料の調製に問題が生じ、予定した実験を行えなかった。最近、この問題も解決したので、特に Cut190 に対する Ca²⁺結合に伴う動的構造変化を解析し、さらに高機能化変異体との機能構造の違いについても、解析を進めたい。</p>		