

(様式 1-2)

提出日：2020 年 5 月 7 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		NMR によるシグナル伝達タンパク質の構造解析	
研究代表者	氏名	朽尾豪人	
	所属機関名・部局名	京都大学・大学院理学研究科	
	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			
アミノ酸特異的に ^{13}C 標識を導入した GPCR 試料を調製し、^1H-^{13}C HMQC スペクトルを測定した。^{13}C を持つアミノ酸を他のアミノ酸に置換した変異体を作成し、同様の測定を行うことで、^1H-^{13}C の交差ピークについて帰属を進めた。また、複数のアンタゴニスト、アゴニストを添加して NMR 測定を行って化学シフトの変化を調べ、相互作用様式を解析した。 二つの球状ドメインからなるタンパク質にランタニドを導入し、PCS(pseudo contact shift)と RDC(residual dipolar coupling)の観測を行った。溶液中では、二つのドメイン間の相対位置は固定されておらず動的である。しかし、PCS と RDC データから、相対位置の分布には偏りがあることが分かった。また、PCS と RDC を満たすコンフォメーションのアンサンブルを構築した。今後、結合タンパク質がこのコンフォメーションアンサンブルに及ぼす影響を解析するほか、ドメイン間の相対位置の分布に細胞内環境がどのように影響するかを調べる。 LLPS(liquid-liquid phase separation)を引き起こす RNA 結合タンパク質の NMR 測定を行った。本研究で対象とする RNA 結合タンパク質には、家族性 ALS（筋萎縮性側索硬化症）の遺伝子解析からアミノ酸変異が報告されている。そこで野生型または ALS 変異型のアミノ酸配列を持つペプチドを用いて NMR 測定を行った。その結果、どちらもランダムコイル構造を持つことが示された。今後はさらに詳細な解析を進め、野生型と ALS 変異型の差異を明らかにしていく予定である。			