

(様式 1-2)

提出日：2020 年 5 月 14 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	室温条件下での食品タンパク質の作用機作に係る高分解能構造解析		
研究代表者	氏名	榎田 哲哉	
	所属機関名・部局名	京都大学大学院・農学研究科	
	職名	助教	
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	鈴木 守		
<p>受容体相互作用モデルを考慮して作成した変異体について呈味性の検討を行った。その結果、甘味が低下した変異体、甘味が強化された変異体、甘味に影響を与えなかった変異体が得られた。これら知見を更に加えて、相互作用モデルの再構築を行い検討したところ、甘味が低下した変異体では、変異導入により甘味に重要な Arg82 の側鎖に影響を与えた事例や、受容体と電荷の反発をしている事例が見られた。甘味が強化された変異体では、正電荷の導入により受容体の負電荷と新たな相互作用が形成され、相互作用領域が増大していることが示唆された（学会発表1）。</p> <p>熱安定性に対する検討では、pH7、pH10 での変性温度が、wild-type に比べてそれぞれ 2.7°C、5.9°C 程度上昇する変異体の取得に成功した。構造解析の結果、変異導入により新たな水素結合が形成されていることが示唆され、この水素結合により熱安定性が向上したと考えられた（学会発表2）。</p> <p>X線自由電子レーザーを用いたシリアルフェムト秒結晶解析（SFX）では、放射線による損傷を最小限に抑えながら、タンパク質の室温での構造を決定できるが、サンプル量を要するため、グリースのような低粘度媒体を用いることで、サンプル消費量が 1 mg 未満で構造決定可能である。しかしながら、市販のグリースは未知の化合物を含んでおり、グリースの粘度を調整することは困難であった。本研究に於いて、従来のグリースよりも粘度が高い媒体を見出し、ナノおよび微結晶タンパク質を用いてプロテイナーゼ K の構造を決定することに成功した（論文発表1）。</p> <p>データ解析については、鈴木准教授とともに、ビームラインオンサイトで XDS を用いた自動解析手法の検討を行った。特に複数の結晶を用いてデータ取得する際には、モザイシティ、<i>I</i>_{sa}、<i>R</i>_{merge} など指標にして瞬時にデータの質を把握できるよう工夫し、その有用性を確認した。</p>			