

(様式 1-2)

提出日：2020 年 5 月 11 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	Discoidin Domain 受容体膜貫通-膜近傍部位の構造解析	
研究代表者	氏名	佐藤 毅
	所属機関名・部局名	京都薬科大学・基礎科学系一般教育分野
	職名	教授室
事業名 (該当の事業名の右欄に○)	<input type="radio"/>	共同研究員
	<input type="radio"/>	超高磁場NMR 共同利用研究課題
	<input type="radio"/>	クライオ電子顕微鏡共同利用研究課題
	<input type="radio"/>	客員フェロー
蛋白研受入担当教員名	北條裕信	
<p>受容体型チロシンキナーゼ(RTK)である Discoidin Domain 受容体(DDR)はコラーゲンをリガンドとし、ヒトでは DDR1、DDR2 の二種類が知られている。両受容体に関しては、細胞外、細胞質内領域の結晶構造解析が達成されているが、膜貫通-膜近傍(TM-JM)部位の構造に関する報告はない。本研究ではこの DDR1 TM-JM 部位の二量体構造、物性を明らかとすることとした。</p> <p>2019 年度は、まず、DDR1 の細胞質内膜近傍部位配列のペプチドを合成、蛍光物質の導入を行った。また、本研究は今後の解析を行う上での基盤の構築も兼ねており、脂質二重層に関しても新たな試みを行うこととした。これまでの研究では Multilamellar vesicle(MLV)、または Unilamellar vesicle(LUV)を用いてきたが、今回は nano-disk を用いた実験も行うこととした。自らの研究における nano-disk の導入は、これまで高分解能構造解析には固体 NMR を用いてきたが、それに加え、溶液 NMR による解析も想定してのことである。Nano-disk の形成にあたり、apolipoprotein A を用いることとした。しかし、筆者らの研究においては Trp の蛍光測定も必要となることが想定されるため、Trp 残基を mutate した apolipoprotein A を大腸菌発現系により調製した。Nano-disk を形成し得る Trp 残基を持たない apolipoprotein A の調製に成功した。</p> <p>TM 部位の構造解析を行うにあたり、当該配列ペプチドを化学合成する必要があるが、その準備として固体 NMR による構造解析を想定した標識戦略を考える必要がある。今後、自らの研究においては、この標識戦略を考えるところで、分子動力学計算(MD simulation)の手法を取り入れることとした。MD simulation による解析は固体 NMR による解析の前段階における標識戦略の決定のみならず、解析後の考察段階においても有用な情報を与える。</p> <p>今回の研究においては、その準備としてこれまで筆者らが研究対象としてきた繊維芽細胞増殖因受容体(FGFR)の TM-IJM 部位に関する MD simulation による解析を行った。この結果は理化学研究所との共同研究で論文として報告している。また、自らもすでに計算機を購入し、EGFR 等の TM-IJM 部位に関する予備的な計算を行っており、今後は DDR の TM 部位に関する計算を行い、固体 NMR による構造解析を想定した標識戦略を決定し、その化学合成、構造解析を行う。</p>		