

(様式 1-2)

提出日：2021 年 5 月 14 日

2020 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		1 回膜貫通型受容体膜貫通一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	
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>2020 年度は、2019 年度の DDR1 の細胞質内膜近傍部位配列ペプチドの合成に続き、TM 部位の合成を行った。TM 部位の構造解析は蛍光、固体 NMR の測定を主な手法とする。今回は、以前から課題となっていた蛍光物質の効率的導入を検討した。今回、想定してる蛍光解析では TM 配列の N 末端に蛍光物質を導入する。Cy3、Cy5 といった市販の蛍光物質を用いるが、ペプチドの N 末端に蛍光物質を導入する場合、一般的には NHS エステル (N-hydroxysuccinimide) を介して導入する。我々のこれまでの実験だと、この場合、導入効率が低かった。従って、今回はカルボン酸を介し導入することとした。固相法による合成の最終段階において、Cy3-COOH または Cy5-COOH に対してカルボキシ基を活性化して樹脂上においてペプチド主鎖の N 末端に導入した。その結果、効率的に蛍光物質導入を達成した。これらの試料を用い、まずは、TM ペプチドの会合を前年度調製条件を見出した nanodisc 膜上において定量的解析を行う。</p> <p>今年度は Covid-19 の影響を大きく受け、当初の予定ほど研究所において実験を進めることはできなかった。しかし、オンラインでの discussion を行うことで、北條教授との膜タンパク質関連の共同研究は進めることができた。合成化学的に調製したカベオリン 1 の脂質二重層上における物性の解析を進めることができ、その成果は論文として報告している。また、京都薬科大学においては、上皮増殖因子受容体(EGFR)ならびに Notch 受容体に関して分子動力学計算を進めている。これらは、今後、蛋白質研究所の共同研究員として進めていく上では基盤となる解析であり、特に固体 NMR による構造解析実験における標識戦略を練るうえでも重要な知見を見出すに至っている。</p>			