

2021 年度 大阪大学蛋白質研究所 拠点事業

## 研究成果報告書

(1) 事業名 (下記より該当事業名を選択し、ほかは削除して下さい。)

共同研究員

(2) 研究代表者

氏名：山下 敦子

所属機関名・部局名・職名：岡山大学・学術研究院医歯薬学域・教授

(3) 研究課題名 (申請時に記載したものと同一課題名を記入して下さい。)

味覚受容体機能を制御する多彩な分子との相互作用解析

(4) 蛋白質研究所受入担当教員

教員名：高木 淳一 (研究室名：分子創製学研究室)

(5) 研究成果の概要 (公開)

研究代表者らは、これまでに味覚受容体 T1r の細胞外領域について、組換えタンパク質発現と精製、精製標品を用いた味物質結合解析 (Nango *et al. Sci. Rep.* 2016) および結晶構造解析に成功している (Nuemket, Yasui *et al. Nat. Commun.* 2017)。これらの立体構造情報と物理化学的結合解析を相補的に実施することで、細胞外領域との多彩な分子との相互作用の詳細を解明することができる。一方で、これまでに知られている T1r の制御分子の多くが低親和性の低分子化合物である。研究代表者らは、T1r の細胞外領域と相互作用できる可能性のある呈味タンパク質変異体作製系を構築したため (Yasui *et al. J Biochem.* 2021)、これを利用して、T1r に対し受容体機能の制御もふくめた多様な機能を示すバインダータンパク質の創製と構造機能解析への活用することを計画した。

味覚受容体 T1r 細胞外領域試料と、同領域と相互作用するバインダータンパク質候補との相互作用解析を実施するための条件設定を目的に、モデルタンパク質として T1r と同様に複数のドメインから構成されダイマーを形成する細胞外タンパク質プロミオスタチンとして用い、それに対するバインダータンパク質を取得した。さらに、プロミオスタチンとバインダータンパク質の相互作用解析を表面プラズモン共鳴測定により実施した。その結果、2種類のバインダータンパク質とプロミオスタチン結合について、結合速度定数と解離速度定数を決定することはできなかったものの、解離定数を見積もることができた。以上のことから、T1r 細胞外領域とバインダータンパク質相互作用解析を実施する際に有用な情報が得られた。