

(様式 1-1)

提出日：2023 年 5 月 4 日

2022 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：佐藤 毅
京都薬科大学・基礎科学系一般教育分野・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。)

1 回膜貫通型受容体膜貫通一膜近傍部位の構造解析

(4) 蛋白質研究所受入担当教員

教員名：北條裕信 (研究室名：蛋白質有機化学研究室)

(5) 研究成果の概要 (公開)

*背景および目的、方法と結果、について、公開して差し支えない範囲で 1 ページ以内で記載。

1 回膜貫通型タンパク質は、受容体型チロシンキナーゼ等細胞情報伝達機構において重要な役割を担うが全長での結晶化が困難であることから、構造生物学的研究においては高難度の研究対象とされている。最近の研究では、これらタンパク質は生体膜に存在する様々な脂質と相互作用し、協奏することで機能を発揮することがわかってきており、構造解析もそのような脂質の影響を加味しなければならない。22 年度は上皮増殖因子受容体(EGFR)をターゲットとして、その膜貫通一膜近傍部位と様々な脂質との相互作用に注目しながら、当該部位の構造、そして受容体の活性化機構の解明を目指すこととした。マイクロドメインを構成する脂質の一つであるガングリオンド GM3 非存在下で EGFR は常時活性を示すことが明らかとなっている[Coskun et al. PNAS 2013]。細胞膜の outer leaflet に存在する GM3 と細胞外領域の相互作用が活性制御に関与する可能性があるが、構造化学的にこのメカニズムを見ていくこととした。

22 年度は EGFR の細胞外膜近傍、膜貫通、細胞質内膜近傍部位(EJM-TM-IJM 部位,55 残基)の合成を行った。合成は CEM 社の microwave assisted peptide synthesizer Liberty Blue を用い、精製は逆相 HPLC で行うこととした。これまでの EGFR の膜貫通部位を含む研究にはない長い配列ではあったが、大きな困難に直面することなく精製まで行うことができた。現在は偏光 FT-IR によって、膜貫通部位の脂質二重層に対する配向解析を行っている。現在は POPC、POPS 等の標準的な脂質から構成される二重層中での解析を行っているが、用いた配列における EJM、IJM は α ヘリックスを含まないと考えられており、スペクトルで α ヘリックス由来のピークを確認することができた。詳細な TM 配列の配向解析は進行中である。

一方、GM3 を混入させた膜中での解析は、22 年度は分子動力的解析で行った。対象配列を DOPC、DOPS、cholesterol、sphingomyelin、GM3 から構成される膜に包埋し、全原子計算を行ったところ、GM3 は EJM 部位に存在する Lys と相互作用することがわかった。上述 Coskun らの報告でこの Lys と GM3 の相互作用は示唆されていたが、MD 計算によって、これを確認することができたこととなる。今後は、その相互作用が EJM-TM-IJM 部位の構造、二量体形成等に与える影響の解析を行う。