

(様式 1-1)

提出日：2023 年 4 月 14 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 ・ 超高磁場 NMR ・ クライオ電子顕微鏡 ・ 客員フェロー

(2) 研究代表者

氏名：北原亮

所属機関名・部局名・職名：立命館大学・薬学部・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。)

生体高分子を対象とした超高磁場 NMR 装置を用いた高圧力 NMR 研究

(4) 蛋白質研究所受入担当教員

教員名：宮ノ入洋平 (研究室名：高磁場 NMR 分光光学研究室)

(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。

[背景と目的]

ジスルフィド結合形成酵素 DsbA は、標的タンパク質の SS 結合を介助するタンパク質であり、抗菌薬の創薬ターゲットである。DsbA の構造安定性を解明するために、その酸化型、還元型、阻害剤複合体について、高圧力 NMR 法によりコンフォメーション平衡について研究を行った。

[方法]

DsbA の  $^{15}\text{N}$  安定同位体標識サンプルについて、SS 結合の酸化型、還元型及び阻害剤複合体を準備した。Bruker 950 MHz NMR 装置に設置した高圧力システムを用いて、1—2500 気圧の範囲で  $^1\text{H}$ - $^{15}\text{N}$  HSQC 測定、Cleanex-PM 測定などを行った。圧力は、状態間の部分モル体積差に基づき、コンフォメーション平衡を変化させる有効な摂動である。

[結果]

加圧に伴い、 $^1\text{H}$  及び  $^{15}\text{N}$  に化学シフト変化が観測された。それらの線形応答、非線形応答を解析し、準安定状態の存在を見出した。構造転移に伴い大きく構造変化する部位を特定し、水和状態の変化についても調査した。酸化型、還元型、阻害剤複合体について、圧力応答の比較解析を行った。