

固体 NMR 膜蛋白質複合体構造解析技術

代表機関：大阪大学蛋白質研究所

代表研究者：藤原敏道

- 背景**
- 固体 NMR は膜タンパク質の構造解析法の 1 つとして期待されている
 - しかし、感度と分解能（見分ける力）が低いという欠点がある

- 成果**
- モデルタンパク質で、固体 NMR 法により構造解析が行えるめどが立った
 - 電子を利用した新たな測定法により、感度を 30 倍まで向上させることに成功した

タンパク質の構造解析に使われる核磁気共鳴（NMR：Nuclear Magnetic Resonance）法では、通常、タンパク質を水などの液体に溶かして測定します。液体中ではタンパク質が高速で動き回るため、向きによる信号の違いが平均化されるからです。しかし、細胞膜などではたらく膜タンパク質は、水に溶かすと構造が変わってしまいます。そこで、膜内にある状態で固体のまま測定する「固体NMR法」を用いることが考えられます。しかし、この方法には感度と分解能（見分ける力）が低いという欠点があります。それを現実に使用可能なレベルまで向上させるのが、私たちの研

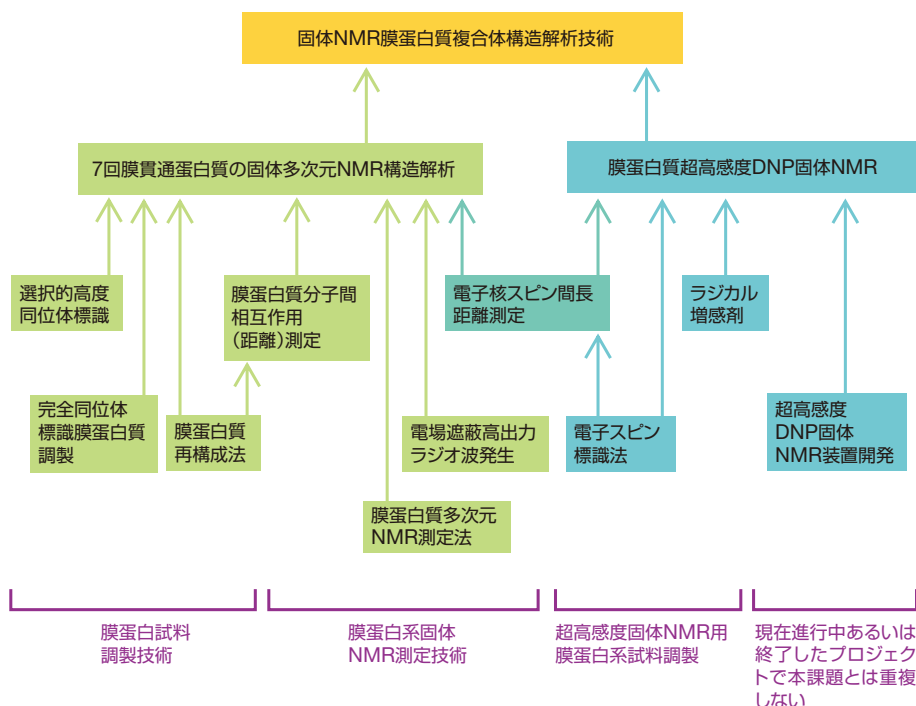
究目的です。

まず、従来の固体NMR法で測定条件の最適化を行い、膜タンパク質の複合体をモデルとして、構造解析技術の確立を目指しました。具体的には、塩素を運ぶハロロドプシン膜タンパク質に注目し、これとともににはたらくpHtrIIというタンパク質との複合体を解析する過程で、さまざまな技術を向上させています。その結果、ハロロドプシンにおけるアミノ酸の並び順（一次構造）と信号の相関づけを65%まで進めることができました。また、膜の中にある部分と外に突き出した水溶性部分の信号を区別できる実験手法を開発し、pHtrIIの水

溶性部分がαヘリックス構造をもつことを明らかにしました。これは、固体NMRだからこそ得られた成果です。

一方、NMRの測定データを解析して立体構造を得るための効率的な計算法も開発しました。この解析法は、さまざまな膜タンパク質のNMRに適用できるものと考えています。

固体NMR法の高感度化については、従来の100倍以上という目標を立てました。NMR法は、高磁場におかれた原子核が分極して磁石のように振る舞う性質を利用したもので、この性質は電子ももっています。電子の分極は水素原子核の約660倍も強いので、これを利用して感度向上につなげようとしています。高輝度テラヘルツ波光源を用いた測定装置や、電子を供給するための新しい試薬を開発し、現時点で30倍の高感度化に成功しています。また、90K以下という温度で実験できれば、感度は300倍に到達しうることもわかりました。



固体 NMR 法での構造解析を達成するため、さまざまな技術開発を行ってきた。図版提供：藤原敏道