

spin25YN001	In-cell NMR を用いた細胞内クラウディング環境での		
	蛋白質の立体構造解析		
	東京都立大学大学院	理学研究科	伊藤 隆

【研究概要】

提案研究では、in-cell NMR 解析の要素技術を改良し、細胞内クラウディング環境下で、蛋白質のダイナミックなふるまいを可視化することを目的とした。具体的には、「in-cell NMR 測定の要素技術の高度化」と、それに基づく「実証研究」を行った。

前者については、葉タバコ由来の植物培養細胞 BY-2 を用いた in-cell NMR 手法の開発を行い、複数のモデル蛋白質を電気穿孔方で導入することで良好な in-cell NMR スペクトルを得た。後者については、ヒト UCHL3 および UCHL1 のヒト培養細胞内での解析を進め、細胞内への導入効率の最適化とバイオリアクターの適用を行うことによって、良好な ^1H - ^{15}N 、 ^1H - ^{13}C 相関スペクトルの取得に成功した。

【発表】

- ・Ito Y, Ikeya T, 「Effects of the intracellular macromolecular crowding on protein structures」, 第 26 回 日本蛋白質科学会

spin25YN003	In-cell NMR 法による細胞内流れストレスの実測		
	京都大学 白眉センター/理学研究科		
	森本 大智		

【研究概要】

生体内には血流や間質流など多様な流れが存在し、栄養の循環や老廃物の排出を担っているが溶質に対する力学的な影響も無視できない。事実、血液凝固因子やアミロイドタンパク質は流れストレスにより構造を変化させ、止血や疾患発症に深く関わっている。しかし、生体内の流れストレスを直接計測する手法は確立されておらず、その大きさやばらつきはよくわかっていない。そこで本研究は、流れストレス応答性を持つ止血タンパク質フォン・ウィレブランド因子の A2ドメイン(vWF-A2)に着目し、レオロジ-NMR 測定とレオロジ-MD 計算を統合することにより流れストレスを高感度に検出可能なセンサータンパク質を開発する。さらに、作製したセンサータンパク質を in-cell NMR 法により導入し、細胞内で vWF-A2 の構造変化を調べることで流れストレスの直接観測を目指す。これにより生体内力学環境の定量化と疾患機構解明への展開が期待される。