田中 謙也

神戸大学 先端バイオ工学研究センター 特命助教

網羅的タンパク電位決定手法の開発による光合成環境適応機構の解明

研究成果の概要

タンパク質システイン残基の網羅的電位決定手法の確立に向け、まずシステイン残基のレドックス 状態を網羅的に測定することを試みた。シアノバクテリア Synechocystis sp 6803 からタンパク質を 抽出し、チオール基修飾試薬でラベル化処理後、トリプシンでペプチドへと消化し、LC-MS/MS で 分析した。 得られたペプチドの質量スペクトラムからタンパク質の同定と、それらに含まれるシステイ ン残基のレドックス状態の測定に成功した。レドックス状態を決定できたシステイン残基含有ペプチ ドは343 個であった。次に Synechocystis から抽出したタンパク質を2種類の酸化還元比のジチオ トレイトール (DTT)バッファーに溶かし、各システイン残基がどれくらい DTT の電位と平衡化する か測定した。その結果、1354個のシステイン含有ペプチドのレドックス状態を2種類の電位で測定 できた。DTT の電位と平衡化したペプチドが 20 個ほど確認された。今後、様々な電位のバッファ ーで同様のアッセイを行い、網羅的な電位の決定を試みる。一方、タンパク質構造の特徴量から 電位を予測することができれば、レドックスシグナルシステムの理解やタンパク質工学の進展に大 きく寄与すると考えられる。そこで、これまでに調べられたタンパク質のジスルフィド結合の電位と、 タンパク質構造データから抽出したジスルフィド結合の特徴量とに相関がないか調べた。しかし、 明確な相関を示す特徴量は現状では見つけられていない。今後は機械学習によって構造特徴量 から電位が予測できるモデルを構築することを試みる。さらに、本研究の網羅的な電位測定データ を用いて、モデルを改良し、タンパク質構造と電位との相関を明らかにする。