

細胞内現象の時空間ダイナミクス
2021 年度採択研究代表者

2021 年度 年次報告書

西田 紀貴

千葉大学 大学院薬学研究院
教授

インセル NMR 計測による細胞内蛋白質の構造・動態・機能解明

§ 1. 研究成果の概要

本研究では、①細胞内タンパク質の構造ダイナミクス情報の取得、②細胞内制御因子の影響の定量、③細胞内局所環境における観測、を可能とする新規 in-cell NMR 計測技術を開発し、これらの技術を用いて④液液相分離(LLPS)形成タンパク質などの高次構造体の解析に適用し、in vitro では再構成が困難な細胞内環境依存的に起こる生命現象の解明を目指す。

①細胞内タンパク質の構造ダイナミクス情報の取得に関しては、GDP 結合状態における Rac1 の 2 状態平衡を反映する NMR シグナルにおいて顕著な広幅化が生じており、動的構造に変調が生じていることが明らかとなった。また、PCS や PRE 情報を用いた Multi-state 立体構造解析法を確立し、YUH1 の 2 つのループの構造分布やマルチドメインタンパク質 GRB2 のドメイン配置の決定に適用した。

②細胞内制御因子の影響の定量に関しては、特定の細胞内制御因子をゲノム編集によりノックアウトした細胞を用いた in-cell NMR 法の開発に取り組み、Ras の GTP 加水分解活性化タンパク質である RASA1 および NF1 の寄与を定量することに成功した。

③細胞内局所環境における観測については、C 末端の脂質修飾部位を含む全長 Ras を GFP 標識タンパク質として細胞内に導入し、細胞膜への局在化が脂質修飾部位依存的に進行することを確認できた。

§ 2. 研究実施体制

(1) 西田グループ

- ① 研究代表者: 西田 紀貴 (千葉大学大学院薬学研究院 教授)
- ② 研究項目
 - ・細胞内の動的構造平衡解析法の開発
 - ・ノックアウト細胞を用いた in-cell NMR 法の開発
 - ・細胞膜やオルガネラへの局在化技術
 - ・高感度 NMR 測定法の開発
 - ・FUS の LLPS 形成機構の解明

(2) 池谷グループ

- ① 主たる共同研究者: 池谷 鉄兵 (東京都立大学大学院理学研究科 准教授)
- ② 研究項目
 - ・アンサンブル構造解析法の開発
 - ・高感度 NMR 測定法の開発
 - ・GRB2 の LLPS 形成機構の解明

【代表的な原著論文情報】

1) Multi-state structure determination and dynamics analysis reveals a new ubiquitin-recognition mechanism in yeast ubiquitin C-terminal hydrolase
bioRxiv 2021.04.22.440356;