

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

2022 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

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)

研究成果の概要

今年度は、①細胞内の動的構造解析法、②細胞内制御因子の影響の定量法、③細胞内局所環境における観測法の開発を進めるとともに、④細胞内高次構造体の観測についても LLPS 形成タンパク質の in-cell NMR 観測に着手した。

- ① Rac1 の発ガン性変異体 P29S の In-cell NMR 解析から、GDP 結合型構造の構造交換速度が低下していることを見出した。また、分子クラウダーの存在下での解析から、細胞内の分子混雑環境が、構造交換速度の低下と構造の安定化に寄与しており、Rac1 の GDP 解離に至るエネルギーランドスケープを変化させることを明らかにした。また、昨年度までに開発した multi-state 構造解析法をマルチドメインタンパク質 GRB2 に適用し、cSH3 ドメインが他のドメインに対して大規模な運動性を持つことを明らかにした。
- ② KRAS G12C 変異に対する共有結合型阻害剤の作用機序の解析を行った。共有結合型阻害剤が KRAS の GTP 加水分解速度には影響を与えず GDP 結合型に選択的に作用して GTP 交換を阻害することを示した。また、細胞内での観測により、GTP 加水分解促進因子の存在により阻害剤の反応速度が in vitro よりも加速することを明らかにした。
- ③ 細胞膜上に局在化した KRAS の動態を観察するための手法を開発した。細胞膜への局在化や受容体刺激によるシグナル伝達依存的な KRAS の活性化と不活性化を In-cell NMR 観測により捉えることに成功した。
- ④ FUS の細胞内における液滴形成機構の解明のため、アルギン酸ゲルを用いた細胞包埋法を利用して低温条件下における In-cell NMR 観測法を確立し、細胞内 FUS の NMR シグナルを観測した。また、GRB2 と SOS1 が GRB2 の二量体形成依存的に液滴を形成することを見出した。