プロジェクト研究発表　要旨

BP発表、 学位論文発表、 中間発表、 CS、 FS、 IS （該当するものに丸印）

発表日:　平成 27 年 2 月 15 日	
学籍番号:13648013	氏名:鈴木　郁也
主指導教員:津川　若子	副指導教員:黒田　裕、早出　広司
プロジェクト研究プログラム(該当項目に丸印):　技術開発実践型　　技術開発プランニング型	
発表タイトル:NMR 構造解析へ向けた $^{13}C^{15}N$ 標識ガウシアルシフェラーゼの精製法の開発(公開・非公開)	

【背景・目的】

様々な生物で観測される生物発光を触媒するルシフェラーゼは、細胞内イメージングにおけるのレポータータンパク質としてしばしば利用されている。現在は、ホタル由来のルシフェラーゼが最も普及しているが、海洋性甲殻類 *Gaussia princeps* 由来のルシフェラーゼ(Gaussia Luciferase, GLuc) は高い発光能や小さな分子量を持っている事から次世代レポータータンパク質として期待されている。一方、GLuc は構造未知である事から変異体作成が進まず、応用範囲で劣るという問題がある。そこで本研究では NMR を用いた GLuc の立体構造解析へ向けて、標識 GLuc の調整法を確立し、NMR の予備測定を行う事で GLuc の立体構造解析の可能性を示した。

【実験概要・結果】

NMR 測定を行うには大量の標識サンプルが必要になる為、大腸菌を宿主とした上で、安定同位体で標識する為の貧栄養培地である M9 培地での大量発現が必要になる。本研究ではそれらの培養・精製条件の最適化を行い、最適化前に比べ菌体当たりの収量を 2 倍まで増加、5ml スケールでは M9 培地を用いた場合の菌体当たりの収量を LB 培地での場合と同レベルまで引き上げる事に成功した。NMR 測定は理化学研究所(横浜)NMR 施設との共同研究で行った結果、約半数の 90 残基の HSQC におけるクロスピークの帰属が終了した。また化学シフトからそれぞれの残基の一部二次構造を同定した。今後は HSQC を用いて、GLuc-基質結合体から活性部位の特定を行う予定である。以上の事から、今後 NMR による GLuc の立体構造解析への道筋は示す事が出来たと考える。

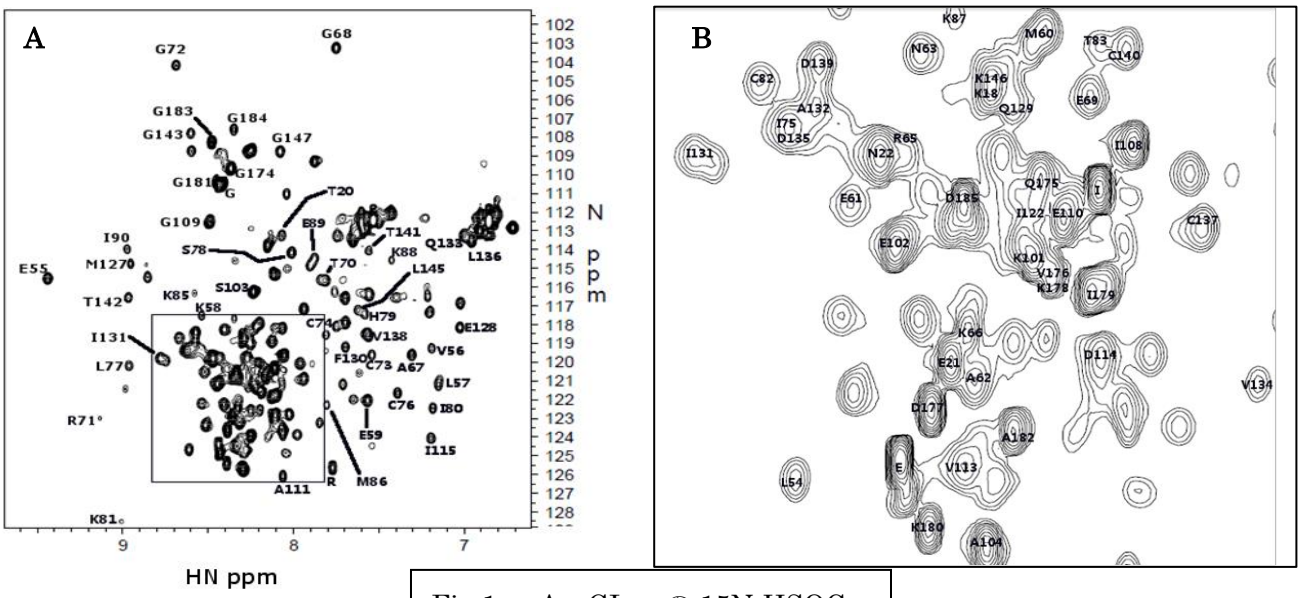

Fig 1　A : GLuc の 15N-HSQC
B : A の一部拡大図