

「高分子科学インタラクティブインターンシップ」報告書

蛋白質研究所 蛋白質構造形成研究室 D1 亀田篤司

派遣先: 愛媛大学総合科学研究支援センター 分子構造機能解析分野 遺伝子解析領域 (森田研究室)

派遣期間: 2006 年 3 月 6 日 ~ 2006 年 3 月 12 日

高分子科学専攻の「インタラクティブ大学院教育」に支援していただいて、愛媛大学総合科学研究支援センター 森田研究室 を 7 日間訪問し、アミノ酸残基特異的同位体標識試料の合成を行なった。私は核磁気共鳴法 (NMR)を用いて、 $\beta 2$ ミクログロブリン ($\beta 2m$) のアミロイド前駆体と考えられているフォールディング中間体の高分解能での構造情報を得る事を目的として研究をしている。しかし、フォールディング中間体は短寿命であるため、従来の手法での NMR 解析は困難であった。愛大総科研・森田研究室では NMR 解析に向けた新規無細胞蛋白質合成法の開発を行なっている。無細胞合成法を用いることで短時間で選択的に信号を観測する事ができるため、本研究の推進に有効であると考え、インタラクティブプログラムの支援を受けて森田研究室を訪問しその技術を習得してきた。

私の習得してきた小麦胚芽抽出無細胞蛋白質合成系は生体高分子の NMR 解析の適用範囲を広めるものとして非常に期待されている。蛋白研にて SP6 プロモータ下流に $\beta 2m$ の cDNA を含むプラスミドを大量に抽出・精製後、愛大総科研で *in vivo* 転写反応、ついで小麦胚芽抽出物を用いた *in vitro* 翻訳反応を行なった。蛋白質が十分に合成された事を確認した後、残基選択的に ^{15}N 核を導入した $\beta 2m$ を合成した。蛋白研に戻った後精製を行ない、目的残基のみの信号を検出することができ、中間状態の信号も帰属できた。このことから、小麦胚芽抽出無細胞蛋白質合成系を用いてアミノ酸残基選択的標識 $\beta 2m$ の作製が可能であり、フォールディング中間体の信号帰属に有用な手法である事がわかり、さらに実験を進めている。

最後に本研究を行なう際に支援頂いた高分子科学専攻の「インタラクティブ大学院教育」に感謝いたします。



上：愛大総科研、樽味ステーション 下：無細胞合成の様子。左はポジコンの GFP。