



Title	超高磁場NMRを用いた蛋白質の液：液相分離誘導における相互作用解析
Author(s)	池之上，達哉；宮ノ入，洋平
Citation	大阪大学低温センターだより．2026，175，p. 12-15
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/104136
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

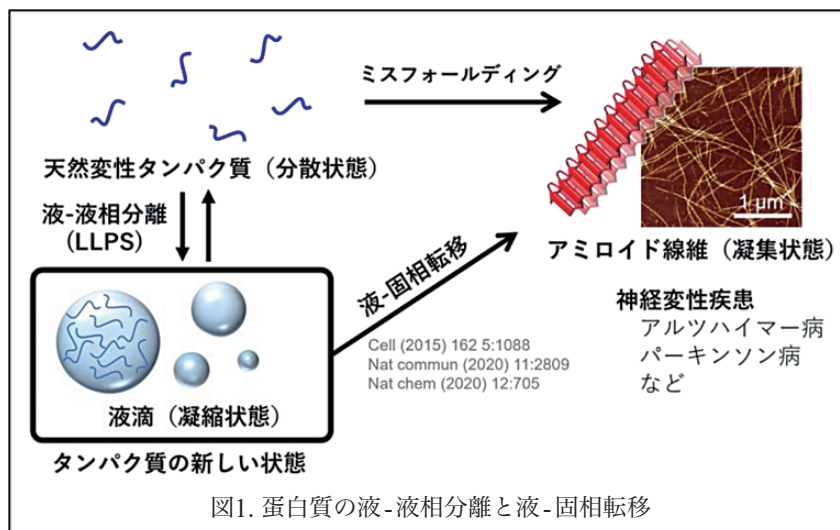
超高磁場NMRを用いた蛋白質の液-液相分離誘導における相互作用解析

蛋白質研究所 池之上達哉, 宮ノ入洋平

E-mail: ikenoue@protein.osaka-u.ac.jp

1. はじめに

近年、蛋白質の液-液相分離 (liquid-liquid phase separation: LLPS) *は、細胞内での反応場形成や機能制御を担う重要な物理化学的現象として注目を集めている。従来、細胞内反応は拡散支配的に進行すると考えられてきたが、LLPSによって形成される液滴状凝縮体は、特定の分子群を局所的に濃縮し、反応効率や選択



性を動的に制御する役割を果たすことが明らかになりつつある。一方で、LLPSは神経変性疾患における異常凝集やアミロイド形成とも深く関係しており、その分子機構の理解は基礎生物学のみならず医学的観点からも重要である。

α -シヌクレイン (α -synuclein, α Syn) *はパーキンソン病の原因蛋白質として知られる代表的な天然変性蛋白質*であり、溶液中では高い運動性を示す一方、条件次第でLLPSや線維化を引き起こす。本研究「*De Novo Peptides That Induce the Liquid-Liquid Phase Separation of α -Synuclein*」では、ペプチドスクリーニング (RaPIDシステム*) を用いて *de novo* に創出した環状ペプチドが、 α SynのLLPSを特異的に誘導できることを示した[1]。特に本研究では、NMR分光法*がLLPS誘導機構の分子レベル理解において中心的な役割を果たした点が大きな特徴である。

2. LLPS研究におけるNMR測定の重要性

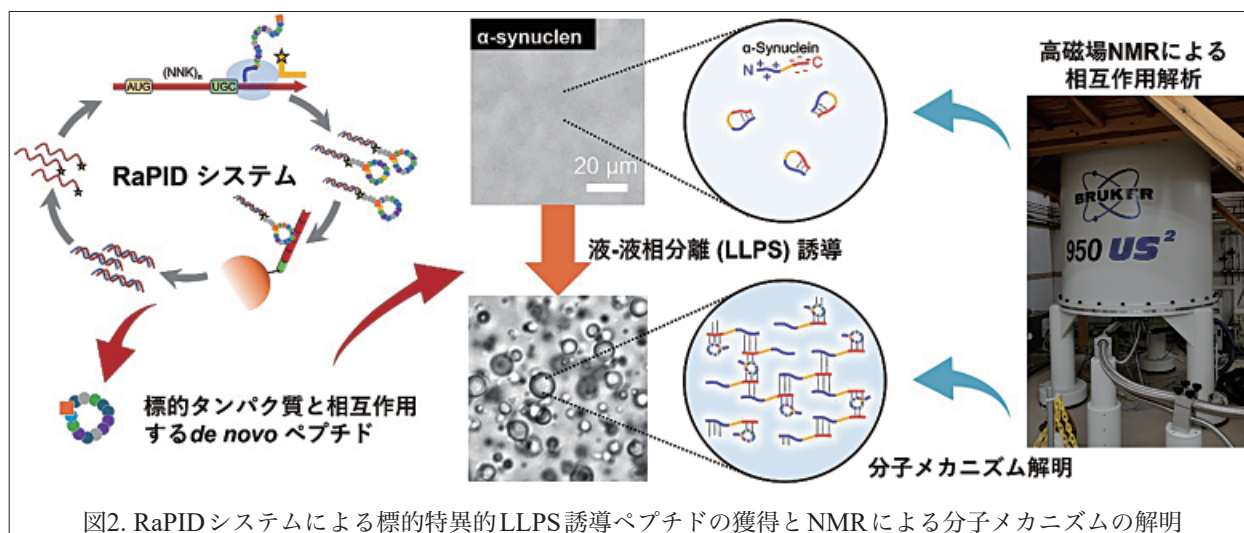
LLPSは多価かつ弱い相互作用のネットワーク形成によって駆動されるため、従来の構造生物学手法では解析が困難である。結晶構造解析は静的かつ高秩序な構造を前提とし、電子顕微鏡も動的で可逆的な相互作用の検出には制約がある。これに対し、NMR分光法は溶液中での蛋白質の構造揺らぎや弱い相互作用をアミノ酸残基レベルおよび原子レベルで追跡できる点で、LLPS研究に極めて適している。

特に ^1H - ^{15}N HSQC スペクトル*は、天然変性蛋白質の各残基環境を高感度に反映し、化学シフト

変化やピーク強度の変化を通じて相互作用部位を同定できる。さらに、LLPS 条件下では凝縮相と希薄相の間で分子交換が起こるため、その交換速度がNMR シグナルに与える影響を解析することで、相分離状態における分子ダイナミクスを間接的に評価することが可能となると考えられる。

3. 本研究においてNMRで達成された成果

本研究では、RaPID スクリーニングによって得られた複数の環状ペプチドが α Syn の LLPS を誘導することを示したが、NMR 測定によりその分子機構が詳細に解析された。ペプチド存在下における HSQC スペクトルを取得することで、ペプチドと α Syn との直接相互作用が評価された。その結果、 α Syn の C 末端領域に広範なピーク減衰や化学シフト変化が観測され、ペプチドが主に C 末端領域と相互作用していることが示唆された。LLPS という集団現象と分子間結合の関係を切り分けて理解できた点はNMR 解析ならではの成果である。



4. 超高磁場NMRの役割と意義

本研究では超高磁場NMR装置*を用いることで、天然変性蛋白質である α Synの広く重なり合うシグナルを高分解能で観測することが可能となった。特に、弱い相互作用やピーク強度変化を定量的に議論する上で、高い感度と分解能は不可欠であり、LLPS研究の信頼性を大きく向上させている。

5. おわりに

本研究は、*de novo* ペプチドによって蛋白質 LLPS を人為的に制御できることを示すと同時に、NMR 分光法がその分子機構解明に不可欠であることを明確に示した。特に、LLPS という動的・集団的現象を、残基レベルの相互作用情報として読み解ける点にNMRの強みがある。本研究で得られた知見は、LLPS 制御分子の設計や、狙った蛋白質に任意の反応を誘導させる人工オルガネラ創生といった将来的応用にもつながる重要な基盤となる。

なお、本研究で示した一連の高品質なNMR データは、超高磁場NMR 装置の安定運用によって初めて実現したものであり、その背景には冷媒の安定供給体制が不可欠であったことを最後に付記し

たい。こうした研究基盤の継続的整備が、今後の先端的構造生物学研究を支える重要な要素である。

参考文献

- [1] Tatsuya Ikenoue*, Masatomo So, Naohiro Terasaka, Wei-En Huang, Yasushi Kawata^c, Yohei Miyanoiri, Hiroaki Suga*, [*Corresponding authors] “*De novo* peptides that induce the liquid-liquid phase separation of α -synuclein” *J. Am. Chem. Soc.*, 147, 27, 24113-24126, 2025

用語説明

液-液相分離 (Liquid-Liquid Phase Separation, LLPS)

LLPSとは、均一な溶液中に存在する分子が、相互作用に基づいて濃縮相（液滴）と希薄相に自発的に分かれる現象である。細胞内では、蛋白質や核酸がLLPSによって膜を持たない凝縮体を形成し、転写、翻訳、シグナル伝達など多様な生命現象を制御している。LLPSは可逆的かつ動的であり、弱い多点相互作用の集合によって駆動される点が特徴である。

α -シヌクレイン (α -Synuclein, α Syn)

α Synはパーキンソン病に関連する代表的な天然変性蛋白質であり、溶液中では明確な三次構造を持たない。一方で、条件次第ではLLPSやアミロイド線維形成を引き起こすことが知られている。N末端、C末端、および疎水性のNAC領域から構成され、柔軟性の高い構造が多様な相互作用を可能にしている。

天然変性蛋白質 (Intrinsically Disordered Protein, IDP)

IDPは安定した立体構造を持たず、高い構造柔軟性を示す蛋白質群である。多価かつ弱い相互作用を形成しやすいため、LLPSの主要な構成要素として機能することが多い。NMR分光法はIDPの構造揺らぎや相互作用解析に特に適した手法である。

核磁気共鳴分光法 (Nuclear Magnetic Resonance, NMR)

NMRは、原子核スピンの磁氣的性質を利用して分子構造やダイナミクスを解析する分光法である。溶液中での測定が可能であり、蛋白質の構造揺らぎ、弱い相互作用、動的交換過程を原子レベルで解析できる点が大きな特徴である。

¹H-¹⁵N HSQC スペクトル

蛋白質NMRにおいて最も基本的な二次元スペクトルであり、各アミノ酸残基の主鎖アミドに対応するピークを与える。化学シフト変化やピーク強度変化は、相互作用や環境変化を高感度に反映するため、分子間相互作用解析に広く用いられる。

RaPID システム

mRNA ディスプレイ技術を基盤とした *in vitro* 分子進化手法であり、非天然アミノ酸を含む環状ペプチドを大規模ライブラリから選択できる。本研究では、RaPIDシステムによって得られた *de novo* 環状ペプチドが α SynのLLPSを特異的に誘導することが示された。

超高磁場 NMR

強力な磁場強度（例：18.8 T, ¹H 共鳴周波数800 MHz以上）を有する超電導磁石を用いたNMR装

置。超高磁場NMR装置を用いることで、感度および分解能が向上し、天然変性蛋白質の重なり合ったシグナルや、低濃度試料の解析、及び、弱い分子間相互作用を高精度に解析できる。LLPSのような微妙なダイナミクスを扱う研究において不可欠な基盤技術である。