

## 表面増強ラマン分光を用いたリン酸化に伴うタンパク質の構造変化解析

Phosphorylation impact on protein conformation by Surface Enhanced Raman Spectroscopy

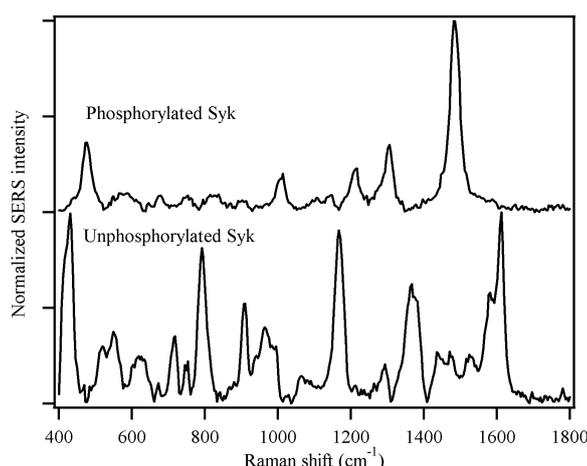
奈良先端大物質<sup>1</sup>, パリ13大<sup>2</sup>, INSERM<sup>3</sup> ○安國 良平<sup>1,2</sup>, コッタ マクシミリアン<sup>2,3</sup>, 本間 耀<sup>2</sup>,  
リジ-ギギ ナタリー<sup>2</sup>, ヴァラン-ブラン ナディン<sup>2,3</sup>, ラミー・ド・ラ・シャペル マーク<sup>2</sup>,  
ル・ロワ クリスティン<sup>2,3</sup>

NAIST<sup>1</sup>, Univ. Paris 13<sup>2</sup>, INSERM<sup>3</sup>, ○Ryohei Yasukuni<sup>1,2</sup>, Maximilien Cottat<sup>2,3</sup>, Yo Homma<sup>2</sup>,  
Nathalie Lidgi-Guigui<sup>2</sup>, Nadine Varin-Blank<sup>2,3</sup>, Marc Lamy de la Chapelle<sup>2</sup> & Christine Le  
Roy<sup>2,3</sup>

E-mail: r-yasukuni@ms.naist.jp

本研究では表面増強ラマン分光法を用いて、リン酸化に伴うタンパク質の構造変化を解析した。タンパク質試料としてリン酸化及び非リン酸化状態の Spleen Tyrosine Kinase (Syk)を昆虫細胞と大腸菌を用いてそれぞれ発現させた。精製した Syk を電子線リソグラフィにより作製した直径 130 nm の金ナノシリンダーアレイ上に滴下し、共焦点顕微ラマンシステムを用いて液中で表面増強ラマン散乱測定を行った。

測定の結果、図に示すようにリン酸化及び非リン酸化状態の Syk は大きく異なる SERS スペクトルを示し、リン酸化に伴う Syk の構造変化が SERS スペクトルの変化として表れることが示唆された。次に SERS スペクトルは Syk の表面部分に位置するアミノ酸の情報を主に反映することから、スペクトル上のピークに対応するアミノ酸と X 線構造解析よりすでに報告されている非リン酸化 Syk の立体構造を比較することで、金表面における非リン酸化 Syk の吸着状態を評価した。最後にリン酸化に伴う Syk と金の吸着状態の変化から、リン酸化により Syk 内部の水素結合が切断され疎水部が表面へ露出するという構造変化のモデルを提案した。



Normalized SERS spectra of unphosphorylated and phosphorylated Syk. SERS was excited at 660 nm.

After background correction, baselines of each spectrum was offset for clarity

Cottat *et al.* *Scientific Reports* **7**, 39766, (2017).