

提出日：平成 28 年 5 月 19 日

平成 27 年度 大阪大学蛋白質研究所 拠点事業

(2) 研究成果の概要

課題名	キノコ由来リボヌクレアーゼのヒト腫瘍細胞増殖抑制作用の解明と応用		
研究代表者	氏名	小林弘子	
	所属機関名・部局名	日本大学薬学部・病原微生物学研究室	
	職名	准教授	
事業名 (該当の事業名の右欄に○)	<input type="radio"/>	共同研究員	
	<input type="radio"/>	国際共同研究課題	
	<input type="radio"/>	超高磁場NMR共同利用研究課題	
	<input type="radio"/>	客員フェロー	
蛋白研受入担当教員名	鈴木 守		
<p>キノコの1種であるヒラタケ由来のリボヌクレアーゼ RNase Po1 (100 残基、11 k Da)、ヤマブシタケ由来 RNase He1 (101 残基、11 k Da) は、グアニン塩基特異的な RNase T1 ファミリーに分類され両者は高いホモロジーを有する。RNase Po1 は、ヒト白血病細胞 HL-60、神経芽腫に対し顕著な増殖抑制作用を示すが (Kobayashi H. <i>et.al.Biosci. Biotechnol.Biochem.</i>, 77, 1486-1491,2013)、He1 は全く示さない。両酵素の構造と増殖抑制作用の関連を比較研究することは、新たな抗腫瘍剤の開発の一序となり得ると考えている。本プロジェクトですでに RNase Po1 の X 線結晶構造解析に成功している (PDB ID: 3WHO)。本年度は、RNase He1 の X 線結晶構造解析に取り組み、マイクロシーディング法にて He1 の結晶が得られた。この結晶は亜鉛と RNase He1 の複合体で、構造解析の結果から、活性中心を構成するアミノ酸残基は、RNase Po1, Ms, T1 の活性残基と同様であり、また、RNase Po1 と同様のジスルフィド結合を有していることがわかった。また、今回得られた構造は亜鉛原子が活性中心にはまり込む形で結合しており、亜鉛を除くと成立しない不活性型の酵素と考えられ、現在、亜鉛フリーの構造を得るための結晶化条件を検討している。</p> <p>一方、RNase He1 の RNA 分解活性に関与しない 12 残基の酸性アミノ酸残基を中性アミノ酸に改変した改変体の至適 pH が pH4.5 から、RNase Po1 と同様の pH7.5 に変動し、Po1 と同程度の腫瘍細胞増殖抑制作用を獲得することはすでに明らかにした。そこで、この 12 残基のうち 1~4 残基のみ改変した改変体を作製し、至適 pH に関与するアミノ酸残基の限定を試みた。その結果、4 アミノ酸残基 (D31-D38-E92-D93) を改変により大きく pH が変動したことから、少なくともこの 4 残基が至適 pH に影響を与えていることがわかった。Zn-RNase He1 の高次構造から中性状態では、D93 と基質のリン酸基が反発する位置にある可能性があり、さらに、これら 4 アミノ酸残基の位置と基質との関係を考察中である。</p>			

※本様式は、“拠点事業成果報告”として、拠点ホームページにて公開させていただく予定です。

※必ず A4 用紙 1 枚におさめて下さい。 ※提出期限：平成 28 年 5 月 20 日 (金) ※提出の際は PDF 変換して下さい。

※提出先：大阪大学蛋白質研究所拠点プロジェクト班 E-mail: tanpakuken-kyoten@office.osaka-u.ac.jp

