

提出日：2019年 5月 7日

平成 30 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	細胞内鉄代謝制御蛋白質 Iron Regulatory Protein (IRP) の分子構造に基づく機能解析		
研究代表者	氏名	石森 浩一郎	
	所属機関名・部局名	北海道大学・大学院理学研究院	
	職名	教授	
事業名 (該当の事業名の右欄に○)	○	共同研究員	
		超高磁場NMR共同利用研究課題	
		クライオ電子顕微鏡共同利用研究課題	
		客員フェロー	
蛋白研受入担当教員名	栗栖 源嗣		
<p>蛋白質の活性中心として生命に必須で多様な機能を果たしている鉄-ポルフィリン錯体であるヘムは、近年、生体内のシグナル伝達分子としても機能していることが示唆されている。これまで本研究代表者らは、細胞内への鉄の取り込みや鉄貯蔵に関する蛋白質の mRNA における鉄応答要素 (Iron Response Element (IRE)) に結合・解離することで、細胞内鉄量の恒常性を維持する Iron Regulatory Protein (IRP) の 2 つの相同体 IRP1 と IRP2 が、いずれもヘムを結合することを見出した (Ogura, <i>et al.</i>, <i>J. Inorg. Biochem.</i>, 2018, 168, 238.)。さらに、このヘム結合によって、これらの相同体はともに IRE に対する結合能を失うこと (Nishitani, <i>et al.</i>, <i>J. Inorg. Biochem.</i>, 2019, in press.) から、ヘムは IRP 相同体に対して細胞内鉄濃度のシグナル分子として結合することを示唆してきた。しかし、IRP1 では IRE との結合を阻害するヘムの結合部位が決定されているものの、IRP2 ではその結晶構造は報告されておらず、そのヘムによる IRE 結合制御の分子機構については検討されてはいない。本研究では、IRP2 におけるヘムによる IRE 結合制御機構を検討するため、その IRE および、ヘムとの複合体の結晶化とその構造解析を目指した。本年度は、安定に形成されると想定される IRE との複合体について、その結晶化条件を検討した。結晶化条件のスクリーニングの結果、今回検討した条件下では、微結晶しか得ることができなかった。そこで、より安定な IRE との複合体を得るために、IRE と相互作用すると想定されている部位付近でジスルフィド結合を形成し、IRE との複合体形成を阻害する Cys512 と Cys516 を Ser に置換した変異体を作製し、IRE との複合体の結晶化を試みた。その結果、この変異体においても検討したすべての条件で結晶が得られなかったが、pH6.5~8.0 の領域で、Mg²⁺や Li⁺、Ca²⁺などの金属イオンやポリエチレングリコール (PEG) を添加することで微結晶が得られる場合が多く、4°Cでの結晶化が適していることが示された。以上の結果から、IRP2-IRE 複合体の結晶化における pH、沈殿剤、温度について、その化学的、物理的条件を絞り込むことができた。</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：令和元年 5 月 17 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