

提出日：平成 29 年 5 月 8 日

平成 28 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	
	職名	准教授	
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	鈴木守		

RNase He1 を大腸菌により発現させ、各種クロマトグラフィーを用いて精製、濃縮後、針状の結晶を得た。PhotonFactory の BL-17A で X 線回折実験を行い、分解能 1.60 Å の回折データを収集した。その結果、He1 と亜鉛イオンの複合体の結晶構造が得られた (PDB ID:5GY6)。得られた He1 構造は同じくグアニン塩基特異的リボヌクレアーゼであるヒラタケ由来の RNase Po1 と基質である 3'-GMP との複合体の高次構造 (PDB ID:3WR2) とジスルフィド結合、活性中心の配向も一致していたが、His37 が Zn に配位することにより活性中心側を塞ぐような構造をとり基質が結合できない「不活性型」の構造であった。He1 は亜鉛イオンを共存させることにより RNA 分解活性が約 6 % まで減少することから、亜鉛イオンが基質結合部位を占有していると思われる。RNase T1 に代表されるこのタイプの RNase は、亜鉛イオンにより RNA 分解活性が減少することはすでに報告されているが、RNase-亜鉛イオンの複合体の X 線結晶構造解析の報告はなく、本研究によりはじめて明らかにすることができた。

また、RNase He1 は、RNase Po1 と約 60% のホモロジーを有するにもかかわらず、Po1 とは RNA に対する至適 pH が異なり、RNase Po1 が有するヒト腫瘍細胞に対する増殖抑制作用を示さない。我々は Po1 の X 線結晶構造解析から、RNase Po1 の分子表面が正に荷電していることを明らかにしており、このことが Po1 の細胞導入効果を高め増殖抑制作用に寄与していると推測している。そこで、RNase He1 の表面電荷ポテンシャルを計算したところ、RNase Po1 では正に荷電している部分が多いのに対し、RNase He1 では負に荷電している部分が多く、分子表面の荷電状態が異なっていることが分かった。

※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 29 年 5 月 19 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