

提出日：平成 30 年 4 月 25 日

平成 29 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○)	○	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		
(研究成果の概要)			
<p>ヤマブシタケ由来 RNase He1 を大腸菌により発現させ、精製、濃縮後、基質である 3'-GMP を加え He1 との基質複合体の構造決定を試み、針状結晶が得られた。これについて、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、Zn 及び 3'-GMP が結合していない He1 (apo 型 He1) と、3'-GMP と He1 の複合体 (3'-GMP-He1) の 2 分子の構造が得られた。3'-GMP-He1 は apo 型 He1 と活性中心、ジスルフィド結合など同様な構造をとっていた。apo 型 He1 と先に得られた Zn と He1 の複合体 (Zn-He1) の構造 (PDB ID:5GY6) を比較してみると、His37 付近のループが両者で大きく異なっていることが確認できた。このループは、3'-GMP の結合部位であるグアニンポケットを塞ぐ位置にあった。He1 は Zn イオン共存下で活性阻害をうけることから、His37 が Zn に配位することで His37 付近のループが大きく移動し、活性中心部位を塞ぐようなかたちとなり活性阻害を起こしているものと考えられた。</p> <p>また、ほとんどの T1 タイプ RNase が至適 pH を 7.5 付近の中性に有するのに対し、He1 は pH 4.5 の弱酸性側に有する。同じく至適 pH 4.5 の RNase Ms は高次構造から基質のリン酸基結合部位に Asp97 (RNase Ms No.) が存在し、中性状態ではリン酸基と反発する可能性がある。至適 pH が 7.5 の RNase T1 や Po1 は Asp97 (RNase Ms No.) が Asn に置き換わっているためリン酸基への反発はないと思われる。今回、決定した 3'-GMP-He1 の構造では、中性状態ではこの部分が活性中心から離れているようである。今後、さらに両者の Asp95 (RNase He1 No.) 周辺の構造を比較検討していく。</p> <p>一方、Po1 の 4 残基改変体を作製し、ヒト白血病細胞 HL-60 に作用させたところ生育阻害作用は未改変体の Po1 よりも減少していた。改変体 Po1 の至適温度は未改変体よりも低いことから、改変により構造の安定性が損なわれたためヒト腫瘍細胞に対する生育阻害作用が減弱したと考えられる。今後、改変アミノ酸残基を再検討して実験を進める。</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 30 年 5 月 18 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