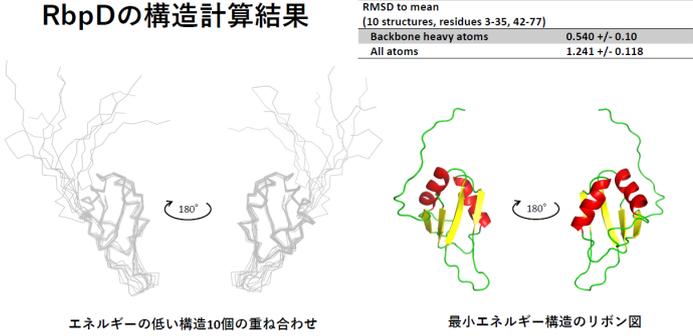


(様式 1-2)

提出日：2021 年 5 月 14 日

2020 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		好冷性細菌 <i>Anabaena variabilis</i> 由来 RNA 結合タンパク質 RbpD の溶液構造研究							
研究代表者	氏名	森田 勇人							
	所属機関名・部局名	城西大学・理学部							
	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		杉木 俊彦							
<p>「背景」幅広い温度環境下で生育できる藍色細菌の一つである、<i>A. variabilis</i> は低温環境にさらされると一連の RNA 結合タンパク質群 (Rbp ファミリー) を発現する。Rbp ファミリーに属するタンパク質のほとんどは、RNA recognition motif (RRM) とそれにつづくグリシンリッチドメインの2つの機能領域から構成されるが、本研究対象である RbpD は RRM のみから構成されている。さらに、RbpD の低温発現誘導は、他の Rbp ファミリーより小さいことが知られている。</p> <p>「目的」本研究では、<b>RbpD のこのような生理機能上の差異がどのような立体構造上の差異に基づいているかを分子構造の観点から明らかにすることを目的とした</b></p> <p>「研究の方法」大腸菌大量発現系により作出した <math>^{15}\text{N}</math> または <math>^{15}\text{N}/^{13}\text{C}</math> 標識 RbpD 標品 (0.2mM) を用いて、主鎖、側鎖の帰属用の測定を行い (AVANCEIII (800MHz ; CryoProbe)、その帰属を MagRO-FLYA の自動帰属で行った。手動による帰属の修正後 <math>^{13}\text{C}</math>-edited (aliphatic and aromatic) / <math>^{15}\text{N}</math>-edited NOESY スペクトルで観測された NOE シグナルの自動帰属を行い、TALOS+による主鎖の二面各情報をも含めて CYANA による溶液構造解析を行った。</p> <p>「研究結果」上記の手法で構造解析を行ったところ、Backbone heavy atom の RMSD を 0.540 Å、All atoms を 1.241 Å (残基番号 3-35、42-77 の領域) で立体構造を決定できた。残基番号 77-94 の領域はフレキシブルな構造をとっているが、Hetero-NOE の計測結果からも、この領域が安定した構造をとっていない可能性が示されており、その結果と一致するものと判断した。また、残基番号 36-41 のループ領域も構造が変動している結果となった。これらの結果をオオムギ由来の Rbp1 (1つの RRM と1つのグリシンリッチドメインから構成される) の立体構造と比較したところ、両者の二次構造の配置とその折り畳み構造は高い類似性を示すが、1) Rbp1 では、RbpD の残基番号 36-41 に対応する領域に短い <math>\beta</math> ストランドが形成されている、2) Rbp1 の RRM のカルボキシ末端 3 残基がヘリクス構造をとるという 2つの相違点が見出された。</p> <p>なお、本成果を得るにあたり、MagRO-FLYA を用いた自動帰属並びに CYANA による溶液構造解析において、機能構造計測学研究室の古板恭子先生、理化学研究所放射光化学研究センターの小林直宏先生のご指導いただきました。</p>									
		<p><b>RbpDの構造計算結果</b></p> <table border="1"> <tr> <td>RMSD to mean (10 structures, residues 3-35, 42-77)</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Backbone heavy atoms</td> <td>0.540 +/- 0.10</td> </tr> <tr> <td>All atoms</td> <td>1.241 +/- 0.118</td> </tr> </table>  <p>エネルギーの低い構造10個の重ね合わせ</p> <p>最小エネルギー構造のリボン図</p>		RMSD to mean (10 structures, residues 3-35, 42-77)		Backbone heavy atoms	0.540 +/- 0.10	All atoms	1.241 +/- 0.118
RMSD to mean (10 structures, residues 3-35, 42-77)									
Backbone heavy atoms	0.540 +/- 0.10								
All atoms	1.241 +/- 0.118								