

(様式 1-2)

提出日：2021 年 4 月 16 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		疾患関連蛋白質、機能性核酸、草木バイオマス抽出物の構造・機能・分子運動相関解析	
研究代表者	氏名	永田 崇	
	所属機関名・部局名	京都大学・エネルギー理工学研究所	
	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		宮ノ入 洋平 准教授	
<p><b>疾患関連タンパク質：</b> 癌細胞を幹細胞化する RNA 結合蛋白質 Musashi1 と標的 RNA の複合体の溶液構造決定に向けて NMR 測定及び解析を行った。Musashi1 は 2 つの RNA 結合ドメイン(RBD)を持つ。これまでは各々の RBD について RNA との複合体の構造機能相関解析を行って来た。今回は、2 つの RBD が連結した、より野生型に近いものと、両方の RBD との結合部位を含む RNA との複合体を解析対象とした。3D <math>^{13}\text{C}</math>-NOESY HSQC や 3D F1(<math>^{13}\text{C}</math>, <math>^{15}\text{N}</math>-filtered)-F2(<math>^{13}\text{C}</math>-edited) NOESY-HSQC をはじめ、種々の 2D, 3D スペクトルを測定し、概ね良好なスペクトルを得た。全てのスペクトルを NMR Pipe/NMR Draw によりプロセスした。目下、MagRO システムを使って解析を行っている。Musashi1 と RNA 複合体の構造決定は、癌細胞の幹細胞化の分子機構を理解する上で重要であり、癌治療薬開発の構造基盤を形成する上でも重要であるため、引き続き、研究の推進に努める。</p> <p><b>草木バイオマス抽出物：</b> 草木の細胞壁を構成する多糖とリグニン、リグニン-多糖間結合により連結され、リグニン-多糖複合体と呼ばれる複雑かつ強固な構造体を形成している。リグニン-多糖間結合には様々な種類が存在するが、本研究ではエステル結合に注目し、これを切断する酵素の構造機能相関解析を行うことを目指した。酵素としては、我々は以前、選択的白腐菌 <i>Pleurotus eryngii</i> 由来のグルクロノイルエステラーゼ (PeGE) を <i>Pichia</i> 酵母により発現・精製する方法を確立した。また、得られた PeGE がモデル基質に対して高い活性を持つことを示した。実際の草木バイオマスに対する PeGE の活性を調べるため、今回は、天然木材からリグニン-多糖複合体を調製する方法の確立を行った。得られた試料の 2D <math>^{13}\text{C}</math>-HSQC スペクトルを測定・解析した結果、エステル結合に由来するシグナルが観測されたことにより、リグニン-多糖複合体の調製に成功したことを確認した。現在、PeGE を作用させ、エステル結合の切断を追跡するための条件検討を行っている。リグニン-多糖間結合の近傍の構造ユニットは天然木材ごとに異なっている可能性が高いため、その化学構造解析も今後 NMR により行う。PeGE が異なる近傍構造を持つリグニン-多糖間結合に対してどのように作用するのかを明らかにする道筋をつけることが出来た。本研究は、草木バイオマスを有効利用し、石油原料を代替する物質の創生につながるため、引き続き、研究の推進に努める。</p>			