

2021 年度 大阪大学蛋白質研究所 拠点事業

## 研究成果報告書

(1) 事業名 (下記より該当事業名を選択し、ほかは削除して下さい。)

超高磁場 NMR

(2) 研究代表者

氏名：織田 昌幸

所属機関名・部局名・職名：京都府立大学・大学院生命環境科学研究科・教授

(3) 研究課題名 (申請時に記載したものと同一課題名を記入して下さい。)

PET 分解酵素 Cut190 の  $\text{Ca}^{2+}$  結合に伴う動的構造解析

(4) 蛋白質研究所受入担当教員

教員名：宮ノ入 洋平 (研究室名：先端計測研究室)

(5) 研究成果の概要 (公開)

*Saccharomonospora viridis* 由来のクチナーゼ Cut190 は、ポリエチレンテレフタレート (PET) を分解する酵素として、これまでに報告のある同様酵素の中でも高い活性を有する。さらに  $\text{Ca}^{2+}$  存在下で、酵素機能を発現し、熱安定性も上昇するという特徴をもつ。最近の X 線結晶構造解析の結果、 $\text{Ca}^{2+}$  結合に伴い、基質結合ループの構造が変化すること、さらに 3 分子の  $\text{Ca}^{2+}$  が結合し、個々の役割が異なることなどを明らかにした。さらに他の 2 価金属イオン結合の効果を解析し、 $\text{Ca}^{2+}$  結合のように弱く結合し、Cut190 の構造を固くしすぎないことが、機能発現に重要であることも論文報告した。本酵素は、マイクロプラスチックという世界的な環境問題の解決に向けても応用可能で、現在、その高機能化を進めている。そこで本研究では、Cut190 の  $\text{Ca}^{2+}$  結合に伴う動的構造変化の解明を目指し、 $^{15}\text{N}$ ,  $^{13}\text{C}$  ラベル化サンプルを用いて、各種三次元測定を行い、シグナル帰属を目論んだ。ただし 2021 年度は、同サンプルの調製にあたり、M9 最小培地での発現効率が不十分で、各種三次元測定を行うにいたらず、 $^{15}\text{N}$  ラベル化サンプルを用いた HSQC 測定を行った。同測定結果から、分子量 29 k の Cut190 でも、シグナルの分離は良好で、今後、発現効率の改善を図り、各シグナルを帰属して、各部位の動的構造解析を行いたい。