

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。)

共同研究員

(2) 研究代表者

氏名：大山拓次

所属機関名・部局名・職名：山梨大学・大学院総合研究部・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。)

古細菌および植物 DNA 複製に関わるタンパク質群の精密構造解析

(4) 蛋白質研究所受入担当教員

教員名：栗栖源嗣 (研究室名：蛋白質結晶学研究室)

(5) 研究成果の概要 (公開)

本研究は、古細菌および植物を中心とした DNA 複製と修復に関わるタンパク質群の立体構造や核内受容体 PPARs とリガンドの複合体立体構造について、大阪大学蛋白質研究所との共同研究のもと、結晶構造解析を軸とした精密構造解析により探求している。2021 年度は、下記の通りに成果を得たので報告する。

古細菌 DNA ポリメラーゼと DNA ヘリカーゼの機能相互作用：*Thermococcus kodakarensis* では、古細菌固有の DNA ポリメラーゼ D(PolD)が複製用酵素として機能する。我々は、PolD ヘテロ 2 量体に含まれる約 60 アミノ酸残基の小ドメイン(DP1N)が複製用ヘリカーゼ(CMG)の約 60 アミノ酸残基の小ドメイン(Gins51C)と特異的に結合することを見出し、これらを含むヘテロ 3 量体の高分解能結晶構造決定し、両酵素間の主要相互作用を明らかにした。PolD も CMG も総分子量 30 万を超える巨大複合体であるが、小ドメインを介して安定かつ複合体の構造柔軟性も確保したユニークな結合を介して、互いの活性を促進し合いながら円滑に DNA 複製を進めることが明らかとなった(Oki et al., *Nucleic Acids Res* 2021)。

大腸菌 RNase HI：本酵素は RNA/DNA ハイブリッド中の RNA 鎖を特異的に切断することで、DNA 複製および修復において重要な役割を果たす。触媒活性に重要な二価金属イオンの役割については不明な点が多いため、今回、本酵素活性部位二価金属イオンの結合様式の再探索を結晶構造解析によって行い、本酵素では初めて 2 個目の Mg<sup>2+</sup>イオンの活性部位への結合を直接観測した(Liao et al., *Acta Cryst D* 2022)。

核内受容体 PPARs—リガンド複合体：PPAR とフェニルプロピオン酸との複合体結晶構造について、PPAR $\alpha$  ではリガンド交換ソーキング法によって (Oyama et al., *Biol Pharm Bull* 2021)、PPAR $\delta$  では組換えタンパク質発現精製法の改善によって (Oyama et al., *Acta Cryst F* 2022) 新規構造を決定し、非アルコール性脂肪性肝疾患や糖尿病性脂質異常症の治療薬 Saroglitazar の構造機能相関を明らかにするため、PPAR $\alpha$  LBD との複合体の結晶構造を決定した(Honda et al., *Biol Pharm Bull* 2021)。