

2023 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。）

タンパク質複合体群の精密構造解析

(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）

\*背景および目的、方法と結果、について、公開して差し支えない範囲で 1 ページ以内 で記載。

本研究は、(1)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複合体の構造機能相関、(2)核内受容体 PPARs とリガンドの複合体の結晶構造に基づく受容体のリガンド認識機構、(3) 石油代替化合物や第 2 世代バイオエタノールの生産システムを目指す微生物酵素群の構造機能解析について、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。2023 年度は、下記の通りに研究成果を得た。

(1) DNA 複製と修復に関わるタンパク質複合体の構造解析：DNA 複製活性化因子の一つであるクランプ PCNA がクランプローダー RFC によって ATP 依存的に DNA 鎖に装てんされる仕組みの解明を目指し、古細菌由来の RFC ヘテロ 5 量体（分子量 20 万）の結晶構造解析を行った。従来に比べて大きく簡略化した精製プロトコールに基づいて調製した試料から単結晶を得て、SPring-8 BL45XU にて X 線回折実験を行った（自動測定）。7.5 Å 分解能の回折データを得て、RFC の基本構造を決定することが出来た。

(2) PPAR-リガンド複合体の結晶構造解析：PPAR を標的とした非アルコール性脂肪肝炎（Non-Alcoholic SteatoHepatitis; NASH）治療薬の 3 つの候補化合物について、タンパク質-リガンド複合体の結晶構造を高分解能で決定し、リガンド結合様式とその機能との関連を原子レベルで議論した（Kamata et al., 2023）。また、リガンド結合ポケット内の Cys 残基と共有結合する新規フェニルプロピオン酸パンアントゴニストの構造機能相関探求のため、PPAR $\gamma$  リガンド結合ドメイン（LBD）-コリプレッサーペプチド-リガンドからなる 3 者複合体の結晶構造解析を行い、3.9 Å 分解能でリガンド結合部位を同定した。

(3) シロアリ腸内共生微生物の木質分解酵素群の構造機能解析に向けて：EST 解析により同定した下等シロアリ腸内共生微生物由来の木質分解酵素群について、大腸菌発現系による大量発現を試みた。種々の試みにも関わらず、今年度は目的タンパク質を可溶性画分として得ることが出来なかった。