

(様式 1-1)

提出日：2024 年 5 月 10 日

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：滝川 正春

所属機関名・部局名・職名：岡山大学・学術研究院医歯薬学域歯学部先端領域研究センター  
教授 (特任)

(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。)

CCN タンパク質 2 の立体構造の決定

(4) 蛋白質研究所受入担当教員

教員名：鈴木 守

(研究室名：超分子構造解析学 )

(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。

Cellular Communication Network factor 2 (CCN2) は多くの成長因子類、その受容体、さらに細胞外マトリックス類と結合して多彩な作用を発揮する多機能因子である。これらの結合分子の種類とその量比が種々の組織・細胞で異なるため Context-dependent な多機能性が現れると考えられ、その作用の分子基盤を解明するには、CCN2 の立体構造を決定する必要がある。そのために、まず、CCN2 と最も高親和性で結合する FGF2 との複合体形成実験を行ったが、両者の混和により溶液が中性に偏り、酸可溶性の CCN2 が沈殿して成功には至らなかった。そこで、複合体形成の相方として CCN2 と同様に酸性条件で溶解性が高く、CCN2 と高い親和性を有する BMP2 を用いて、複合体形成実験を行い、両者の混和により沈殿形成を回避出来ることまではすでに報告した。次いで、スピンカラムによる限外濾過により、free の CCN2 および BMP2 を除去して、複合体のみが存在すると想定されるカラムメンブランの上層液を電気泳動後、抗 CCN2 抗体および抗 BMP 抗体を用いてウェスタンブロットを行ったところ、CCN2 の存在は確認できたが、BMP2 のバンドは確認できなかった。その原因を究明したところ、CCN2 が BMP2 と混和する前段階で多量体形成ないしは濃縮により目に見えない微細な凝集体を形成しており、大半の BMP2 は CCN2 と結合することなく膜を通過してしまっていた可能性が高いと考えられた。因みに、CCN2 と FGF2 や BMP2 との結合は以前から固相法や SPR で確認しており、その際は低濃度の生理的条件 (中性条件) で実験してきたが、今回の結晶化実験ではタンパク濃度を上げる必要があり、そのためには CCN2 の場合は酸性条件にする必要があり、これが大きな障壁となっていることを改めて認識することとなった。