

(様式 1-1)

提出日：2025 年 5 月 9 日

2024 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、ほかは削除してください。）

共同研究員

(2) 研究代表者

氏名：櫻井 一正

所属機関名・部局名・職名：近畿大学・先端技術総合研究所・准教授

(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ください。）

アロステリック制御によるタンパク質動的分子構造変化の機構解明

(4) 蛋白質研究所受入担当教員

教員名：宮ノ入洋平准教授（研究室名：高磁場 NMR 分光学 研究室）

(5) 研究成果の概要

タンパク質の動的構造（運動性や構造状態平衡）の変化による、機能変化のメカニズムの解明を目指している。その一つとして、アロステリック機構の解明のため、Ectonucleoside Triphosphate Diphosphohydrolase 5 (ENTPD5) というタンパク質に着目した。ENTPD5 は小胞体内への糖の取込みとその糖鎖による生産タンパク質の品質管理に関わる。特定のガン細胞では発現量が亢進しているため、その阻害によるガン抑制を目標とし、まず ENTPD5 反応のキャラクタリゼーションを行った。

期間前に申請者の研究室にて *P. pastoris* による ENTPD5 の発現系確立がなされており、期間中に NMR による酵素活性解析を行った。その際、得られた ENTPD5 には異なる糖鎖付加状態が存在し、それぞれの酵素活性に変化があることを発見した。この結果から、細胞の糖取込み能には ENTPD5 の活性が自身の糖鎖付加状態で変化することを利用したフィードバック機構があることを提案した。

また期間内に、タンパク質の動的構造に関わるもう一つのテーマとして、出芽酵母の分泌シグナル配列の構造状態にも着手した。α 接合因子の N 末端側にあるシグナル配列は強力な分泌発現を誘導するため、異種発現にも用いられる。シグナル配列自身の変異や下流に結合するタンパク質に依存し発現量が変化することが知られているが、そのコンストラクトと発現量がどのように関連するのかは未知であった。シグナル配列は特定の構造をとらない性質があるため、その構造状態に発現量が左右されると考え、そのシグナル配列のキャラクタリゼーションを試みた。

期間内に大腸菌によるシグナル配列部分の二重標識体を発現し、主鎖帰属用の HNCACB、CBCACONH、HNCO、HNCACO を行った。そのデータの解析の結果、HSQC 信号帰属をほぼ 100%で達成することができ、今後行う予定である動的構造解析用の測定 (T_1 , T_2 , het-NOE、CLEANEX-PM など) の下地が整った。