

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：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ください。）

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

*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記載。

本研究は、(1)古細菌を中心とした DNA 複製・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)第 2 世代バイオエタノール生産への貢献を目指す木質分解酵素群の構造酵素学について、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。2024 年度の成果について、下記の通り報告する。

(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 RFC ヘテロ 5 量体（分子量 20 万）の結晶構造決定に向けた実験を継続している。昨年度、従来法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た。今年度、単結晶取得までのプロセスの再現性は確認したが、構造決定に向けた実験へ踏み込むまでには至らなかった。

(2) PPAR-リガンド複合体の結晶構造解析：PPARs($\alpha/\delta/\gamma$)は内因性脂肪酸や合成薬剤に依存して脂質/グルコース代謝や酸化ストレスを調節する転写因子である。我々は、リガンド非結合/不活性状態からリガンドおよびコアクチベーターが結合して活性化型に変遷する過程を単一および二重発光蛍光共鳴エネルギー移動 (FRET) アッセイを用いて調査し、活性制御因子群の動的な特性を明らかにした。さらに、X 線結晶構造回折により 5 つの新規複合体構造を決定し、活性制御因子の動態を原子レベルで特定することができた(Kamata et al., 2025)。

(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。あるバクテリア由来セルラーゼのセルロース結合モジュール(CBM)について、GST タグ融合体として可溶化発現に成功した。構造解析に向けて、タグ分離遊離 CBM の大量調製を目指す。