

提出日：2019年 5月 5日

平成 30 年度 大阪大学蛋白質研究所 拠点事業

## (2) 研究成果の概要

課題名	免疫系蛋白質と酵素の構造機能相関解明にむけた分子間相互作用解析		
研究代表者	氏名	織田 昌幸	
	所属機関名・部局名	京都府立大学・大学院生命環境科学研究科	
	職名	教授	
事業名 (該当の事業名の右欄に○)	○	共同研究員	
		超高磁場NMR 共同利用研究課題	
		クライオ電子顕微鏡共同利用研究課題	
		客員フェロー	
蛋白研受入担当教員名	中川 敦史		
<p>HEL とそのジスルフィド結合の 1 つを還元アルキル化した CM<sup>6,127</sup>-HEL を識別する抗体 HyC1 の一本鎖 Fv 抗体 (scFv) を調製し、その抗原認識機構を、等温滴定量熱計 (ITC) を用いて解析した。その結果、HEL と CM<sup>6,127</sup>-HEL 各抗原に対するエントロピー変化量はほぼ変わらず、エンタルピー変化量の差で結合力に差が出ることを明らかにした。これは HEL のジスルフィド結合損失に伴い、揺らぎの程度が増加するも、HyC1 はその構造分布のうち、ある特定の分布を特異的に認識し、結合すると分子機構を支持する。T 細胞活性化に関わる CD28、ICOS、CTLA-4 の各受容体細胞内領域と phosphoinositide 3-kinase (PI3K) の C 端側の SH2 (cSH2) との結合を、ITC を用いて解析した。<i>Saccharomonospora viridis</i> 由来クチナーゼ Cut190 の不活性型変異体 Cut190*S176A について、Ca<sup>2+</sup>や他の二価金属イオンとの結合を、ITC を用いて解析した。Mn<sup>2+</sup>、Zn<sup>2+</sup>、Mg<sup>2+</sup>の結合熱は観測され、結合熱力学量も決定されたが、Ca<sup>2+</sup>では結合熱がほとんど観測されないことから、他の二価金属イオンよりも弱い結合であることが示唆された。また平成 29 年度の本共同研究成果で、今年度、論文発表した中で述べたように (Numoto <i>et al.</i>, <i>Biochemistry</i> 57, 5289, 2018)、Cut190 には最低 3 カ所の金属イオン結合部位の存在が示唆されているが、今回、結合比が Mn<sup>2+</sup>や Mg<sup>2+</sup>では 1、Zn<sup>2+</sup>では 3 という結果が得られた。</p>			

※本様式は、“拠点事業成果報告”として、拠点ホームページにて公開させていただく予定です。

※必ず A4 用紙 1 枚におさめて下さい。 ※提出期限：令和元年 5 月 17 日 (金) ※提出の際は PDF 変換して下さい。

※提出先：大阪大学蛋白質研究所拠点プロジェクト班 E-mail: tanpakuken-kyoten@office.osaka-u.ac.jp