

提出日：2019 年 5 月 17 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	特定酵素の可逆的フォールドを担う新規シャペロン蛋白質の解析	
研究代表者	氏名	尾瀬農之
	所属機関名・部局名	北海道大学・大学院先端生命科学研究院
	職名	准教授
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	宮ノ入 洋平	
<p>私達は Monensin 生合成をモデルケースとしてポリエーテル骨格構築機構の解明に取り組んできた。多様性を決定づけるエーテル環の導入は、エポキシド加水分解酵素ホモログである環化酵素が担うことが、最近は広く知られてる。Monensin の場合、その骨格を構築するために 3 回の 5-<i>exo</i> 環化反応が必要である。しかしながら、モネンシン生合成遺伝子クラスター中には、環化酵素と相同性を持つ遺伝子が <i>monBI</i>, <i>monBII</i> の 2 つしか存在しないため、この 2 つの環化酵素がどのように 3 回の環化反応を触媒するかを解明することが、複雑なポリエーテル骨格構築メカニズムを一般化することと同義であると考えた。MonBI, MonBII とともに単独で水溶液中に存在できるにもかかわらず、MonBII の酵素活性は MonBI の存在下においてのみ発現される。すなわち、MonBI は MonBII 活性化のための補助的な役割を果たしていることになるが、この MonBI 機能の実体を解明するため、両蛋白質の生化学的な解析および X 線結晶構造解析・NMR 解析をおこなった。大きな基質を収容するための長大ポケットを持ち、かつ反応過程に応じて形が異なる基質を認識する MonBII は、単独で立体構造を形成できない蛋白質である可能性を検証した。<sup>1</sup>H-<sup>15</sup>N HSQC 測定から MonBII 単独では、シグナル位置の分散性が乏しく、立体構造を形成していない領域が多いと言える。ここに非標識のシャペロンを加えると、いくつか蛋白質のフォールディングを示すと考えられるシグナルが出現した。結晶構造で見られた構造との比較のため、今後の課題としては <sup>1</sup>H-<sup>15</sup>N HSQC スペクトルのアサインであるため、<sup>15</sup>N で標識した MonBII の MonBI 存在下で <sup>1</sup>H-<sup>15</sup>N HSQC スペクトルを測定した。これまでは主鎖帰属ができるレベルのシグナルは得られていない。pH, 塩濃度および種類, 温度, 濃度, 混合比を変化させて MonBII の <sup>1</sup>H-<sup>15</sup>N HSQC シグナルが最も良くなる条件を検討した。今後、重水を用いた培地・精製緩衝液を使用し、さらに <sup>2</sup>H を導入して S/N を上げる。また、側鎖メチル基選択的ラベル化等も試す。</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