

(様式 1-2)

提出日：2021 年 4 月 22 日

2020 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	キノコ由来リボヌクレアーゼの抗ヒト腫瘍細胞活性の作用機序の解明と応用	
研究代表者	氏名	小林 弘子
	所属機関名・部局名	日本大学薬学部・病原微生物学研究室
	職名	教授
事業名 (該当の事業名の右欄に○)	<input type="radio"/>	共同研究員
	<input type="radio"/>	超高磁場NMR 共同利用研究課題
	<input type="radio"/>	クライオ電子顕微鏡共同利用研究課題
	<input type="radio"/>	客員フェロー
蛋白研受入担当教員名	鈴木 守	
<p>食用キノコ由来、グアニン塩基特異的 RNase (T1 ファミリー) であるヤマブシタケ由来 RNase He1 とヒラタケ RNase Po1 は同一の活性中心構造、S-S 結合を有し、60%の高いホモロジーを有している。しかし、Po1 のみ顕著にヒト腫瘍細胞生育阻害作用を有する。これは、両者の等電点が、He1 : pH4.5、Po1 : 9.2 と大きく異なっていることにより、ヒト腫瘍細胞内への導入効果が異なっているのではないかと考えている。今までに、Po1 (PDB: 3WHO)、Po1-3'GMP 複合体 (PDB : 3WR2)、He1-Zn 複合体 (PDB : 5GY6)、He1-3'GMP (PDB ID : 6LS1) の X 線結晶構造解析に成功している。Po1 と He1 の分子表面の荷電状態を比較すると、Po1 が正荷電領域、He1 では負に荷電している領域が広範囲であった。ピリミジン塩基特異的 RNase (A ファミリー) に分類される抗腫瘍性 RNase の知見から、腫瘍細胞内に導入されるには正に荷電している方が優位であることがいわれていることから、Po1 はより腫瘍細胞に取り込まれやすいことが構造面から確認できた。腫瘍細胞内の Po1 及び He1 を免疫染色による検討により、Po1 のみ細胞内に導入されていることが確認できている (日本薬学会第 140 年会)。また、He1-Zn 複合体の構造から、Zn が活性中心付近に結合することにより構造変化が起こり RNA 分解活性を阻害することを Po1 の構造との比較で明らかにした (<i>Biol.Pharm.Bull.</i> 42(12), 2054-2061,2019)。一方、Po1 と He1 の至適 pH は、He1 : pH 4.5、Po1 : pH 7.5 と大きく異なっている。He1-3'GMP と Po1-3'GMP 複合体の活性中心近傍との立体構造を比較することにより至適 pH の相違に関するいくつかの知見を得た。現在さらに鈴木准教授の支援のもと考察中である。今後、RNase He1 を 12 残基改変したことにより至適 pH が Po1 と同様に pH7.5 にシフトし、Po1 と同程度の抗腫瘍活性を獲得した 12He1 の立体構造を明らかにすることにより、至適 pH と抗腫瘍活性と構造との関連がさらに明確になると考え、現在、12He1 の X 線構造解析を進めている。</p> <p>一方、いくつかの RNase Po1 の部位改変体の作成をしたところ、抗腫瘍活性発現に重要なアミノ酸残基がいくつか見つかってきている。抗腫瘍 RNase の細胞内導入のメカニズムは、特別なレセプターも発見されておらず未だ不明であることから、ひき続き種々の改変体を作成し抗腫瘍活性に関与しているアミノ酸残基を検索し、抗腫瘍活性と構造との関連を明らかにしていきたいと考える。</p>		