

(様式 1-1)

提出日：2026 年 5 月 5 日

2025 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。2025 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:クランプ PCNA がクランプローダー RFC により DNA 鎖に装てんされる機構の解明を目指している。古細菌由来 RFC ヘテロ 5 量体(分子量 20 万)の精製では、以前は CBP タグで良好な成績を得ていたが、近年回収率の低下が課題となっていた。そこで His タグへの変更を計画した。His タグについては、分子量に対してタグが短いと金属キレートカラムへ結合しない過去の知見を踏まえ、十分な長さのリンカーを導入した His タグ融合 RFC の発現ベクターへの改変を試み、目的のプラスミド構築に成功した。

(2) PPAR—リガンド複合体の結晶構造解析:PPARs($\alpha/\delta/\gamma$)は脂質/グルコース代謝や酸化ストレス等を調節する転写因子である。今年度は、共同研究者が創製した共有結合性フェニルプロピオン誘導体パンアンタゴニスト、PPAR γ リガンド結合領域(LBD)、およびコリプレッサーペプチドの三者複合体の共結晶化を目指した。品質評価を兼ねて PPAR γ LBD 単体で結晶化スクリーニングを実施した結果、新規条件で単結晶を得て、2.8Å 分解能の X 線回折データ収集に成功した。

(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：昨年度に引き続き、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)の構造解析に向けた実験を継続した。GST タグ融合体としての可溶化大量発現、およびタグ分離を含むアフィニティ精製に成功し、結晶化スクリーニングに十分な高濃度の精製標品を取得することに成功した。