

(様式 1-1)

提出日：2026 年 月 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： 海野 昌喜

所属機関名・部局名・職名：茨城大学・学術研究院応用理工学野・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。）

タンパク質の活性化の原子スイッチング機構解明

(4) 蛋白質研究所受入担当教員

教員名：中川 敦史（研究室名：超分子構造解析学研究室）

(5) 研究成果の概要

シアノバクテリア *Synechocystis* sp. PCC6803 のタンパク質 X は、光応答性遺伝子の mRNA の安定性に関与している因子だと考えられている。暗条件下において、mRNA の 5'-非翻訳領域に共通して存在する AU-box 配列は RNase E の標的となっており、mRNA は不安定になる。明条件下においては、タンパク質 X が RNase E の切断活性を阻害することで mRNA を安定化し転写産物量が増加するが、生体内におけるタンパク質 X の RNase E 阻害メカニズムや構造については不明である。我々の研究室ではタンパク質 X の精製条件を確立することに成功したが、結晶化条件の探索には難航していた。そこで、本研究では、溶液中の性質や構造安定性、構造アンサンブルを評価することで、タンパク質 X の生体内での機能や構造解明の一助とすることを目的とした。蛋白研では、Mass Photometry で大まかな分子量を調べた。その結果、計算値とほぼ一致する結果が得られ、十分な精製度であることが確認できた。その後、X 線小角散乱によって、低分解能の構造解析に成功した。また、我々はシアノバクテリアの RNase E (SyRNase E) の構造研究も行っている。RNase E は天然変性部分が多いと予測されており、十分な量が取れず、本研究室では精製法の検討を行っており、2つの画分（50k画分、100k画分と呼ぶ）が得られている。計算上、SyRNase E の分子量は 7 万 5 千程度であるが、Mass Photometry の結果、50 k RNase E 画分には主に 50k 弱の分子量のタンパクと 300k~350k の分子量のタンパクが混合していることが分かった。また、100k RNase E 画分には主に約 340k~360k の分子量のタンパクが含まれることが分かった。50 k RNase E 画分の 300k~350k の分子量のタンパクと 100k RNase E 画分の約 340k~360k の分子量のタンパクは同じものだと考えられる。先行研究によって大腸菌 RNase E が 4 量体を形成することが示されており、SyRNase E も同様に溶液中で 4 量体を形成する可能性がある。その場合 75k の 4 倍は 300k となる。または四量体を形成せず単量体の SyRNase E が分解したものが 50k に検出された可能性が高い。精製には 1 週間以上かかるため、精製中に分解が進んだことが考えられる。よく見ると 50k 弱のピークの右側に肩があり、これはキャリブレーションに使用した conalbumin の 75k のピークと位置

が一致するため、分解されずに残ったSyRNase Eが少量含まれている可能性がある。

また、我々は毛髪形成に関わるpeptidylarginine deiminase III（PAD3）の構造と機能の相関の研究を行っている。PAD3は Ca^{2+} を結合して活性化するが、その親和性はよくわかっていない。そこで、等温滴定型カロリメーター（ITC）でPAD3と Ca^{2+} の親和性を測定した。現在のところ、再現性のあるデータは得られていないが、バッファーに含まれる Na^+ が結合を阻害することが明らかになった。