

(様式 1-1)

提出日：2026 年 4 月 10 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：織田 昌幸

所属機関名・部局名・職名：京都府立大学・大学院生命環境科学研究科・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。）

弱い金属イオン結合に伴い機能発現する蛋白質の動的構造解析

(4) 蛋白質研究所受入担当教員

教員名：宮ノ入 洋平（研究室名：高磁場 NMR 分光光学研究室）

(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。

金属イオン結合により酵素が機能発現する事例は多く、特に弱い金属イオンによる制御は、酵素全般での構造機能相関としても注目される。放線菌由来のクチナーゼ様酵素 Cut190 も、 Ca^{2+} 結合により機能発現するが、 Ca^{2+} 結合は他の二価金属イオン結合より弱く、さらに Ca^{2+} 結合部位とは離れた基質結合部位に構造変化が伝播するなど、その作用メカニズムは興味深い。これまでの Cut190 各種変異体と Ca^{2+} や Zn^{2+} 、基質との複合体で、複数の X 線結晶構造が得られ (Numoto *et al.*, *Biochemistry* 57, 5289, 2018; Senga *et al.*, *J. Biochem.* 169, 207, 2021; Emori *et al.*, *Proteins* 89, 502, 2021; Numoto *et al.*, *Int. J. Biol. Macromol.* 281, 136597, 2024 など)、金属イオン結合と解離に伴う Cut190 の構造変化が示されており、これら動的な構造変化も含めて、NMR を用いて解明することを目指している。Cut190 分子内にジスルフィド結合を導入し、安定化した変異体 Cut190**SS を用い、これを ^{13}C , ^{15}N 均一標識した Cut190**SS を発現、精製して、HNCA や HN(CO)CA など各種三次元 NMR 測定を行った。Cut190**SS は、分子量が 29 k で、 ^1H , ^{15}N HSQC スペクトルは比較的良好なものの、現状では全シグナル帰属は困難で、部分的なシグナル帰属を進めるとともに、重水素化 Cut190**SS を用いた TROSY 測定も予定している。