

26PB-am004

ヤマブシタケ由来 RNase Hel の Zn 複合体の X 線構造解析

○小林 弘子¹, 元吉 尚美¹, 板垣 正¹, 武部 克希³, 寒川 剛², 鈴木 守² (¹日本大薬,
²阪大蛋白研,³阪大歯)

[目的] グアニン塩基特異的リボヌクレアーゼであるヤマブシタケ由来 RNase Hel は、ヒラタケ由来 RNase Pol と約 60% のホモロジーを有するにもかかわらず、Pol とは RNA に対する至適 pH が異なり、Pol が有するヒト腫瘍細胞に対する増殖抑制作用を示さない。Pol の X 線結晶構造解析から、Pol の分子表面が正に荷電していること明らかにし、このことが Pol の細胞導入効果を高め増殖抑制作用に寄与していると推測されることはすでに報告した (第 135 回熊本)。これに対し Hel は酸性アミノ酸を多く有し、等電点が pH4.5 の弱酸性にあることから分子表面が負に荷電している可能性がある。また、Hel の 12 残基の酸性アミノ酸を中性アミノ酸に改変したところ、ヒト腫瘍細胞に対し Pol と同様程度の増殖抑制作用を示したことから分子表面の荷電状態と増殖抑制作用は関連がある可能性がある (第 132 回札幌)。そこで、本研究では Hel の X 線結晶構造解析を試み Pol の高次構造と比較することで、構造とヒト腫瘍細胞に対する増殖抑制作用について考察した。

[結果及び考察] Hel を大腸菌により発現させ、各種クロマトグラフィーを用いて精製、濃縮後、針状の結晶を得た。PhotonFactory の BL-17A で X 線回折実験を行い、分解能 1.60 Å の回折データを収集した。その結果、Hel と亜鉛イオンの複合体の結晶構造が得られた (PDB ID:5GY6)。Hel は亜鉛イオンを共存させることにより活性が約 6 % まで減少することから、亜鉛イオンが基質結合部位を占有していると思われた。また、この構造は Pol と極めて類似しており、ジスルフィド結合、活性中心の配向もほぼ一致していた。Hel の表面電荷ポテンシャルを計算したところ、Pol では正に荷電している部分が多いのに対し、Hel では負に荷電している部分が多く、分子表面の荷電状態が異なっていることが分かった。