

様式3

群馬大学生体調節研究所内分泌・代謝学共同研究拠点共同研究報告書

令和 4 年 4 月 28 日

群馬大学生体調節研究所長 殿

所属機関名 国立大学法人筑波大学  
職 名 研究員  
研究代表者 森田 陸離

下記のとおり令和3年度の共同研究成果を報告します。

記

(課題番号: 21005 )

|                             |   |                    |     |                         |
|-----------------------------|---|--------------------|-----|-------------------------|
| 1. 共同研究課題名                  | プリン生合成を制御する細胞内構造体プリノソームの形成機構と役割の解明  |                    |     |                         |
| 2. 共同研究目的                   | プリノソームは酵母からヒトまで保存されたプリン代謝に関与する細胞内構造体であるが、その形成機構や役割は未だ不明である。本研究では酵母を用いてプリノソーム形成関連因子を解析して、その制御機構を明らかにする。また分子動力学シミュレーションによりプリノソーム形成がプリン代謝を制御する仕組みの解明を目指す。プリノソーム形成機構や生理的意義が明らかになれば、それを標的とした新規の痛風やガンの治療薬の創発に繋がると期待される。 |                    |     |                         |
| 3. 共同研究期間                   | 令和3年 4月 1日 ~ 令和4年 3月31日   |                    |     |                         |
| 4. 共同研究組織                   |   |                    |     |                         |
|                             | 氏 名   | 所属部局等              | 職名等 | 役 割 分 担                 |
| (研究代表者)                     | 森田 陸離   | 筑波大学<br>計算科学研究センター | 研究員 | 分子動力学法による<br>計算およびデータ解析 |
| (分担研究者)                     |   |                    |     |                         |
| 5. 群馬大学生体調節研究所<br>の共同研究担当教員 | 分野名   | 細胞シグナル             |     | 氏 名 高稲 正勝               |

※ 次の6, 7, 8の項目は、枠幅を自由に変更できます。但し、6, 7, 8の項目全体では1頁に収めて下さい。

## 6. 共同研究計画

真核細胞に保存されたプリン代謝酵素複合体であるプリノソームの形成機構を明らかにするため、プリン新規合成の初発酵素、PRPP amidotransferase (酵母では ADE4) に着目して解析する。これまでに ADE4 がラパマイシン標的タンパク質複合体 1 (TORC1) のキナーゼ活性依存的に顆粒形成することを発見し、ADE4 顆粒形成が異常になる TORC1 関連遺伝子変異株も複数同定している。本研究課題ではこれらの遺伝子群が実際にどのように ADE4 顆粒形成に関与するのか、その分子機構の解明を目指す。

また C 末端配列を欠損した ADE4 変異体は顆粒を形成せず、変異株の生育も悪くなることから顆粒形成は ADE4 の活性に重要であると示唆された。そこで大腸菌 ADE4 の構造情報と酵母 ADE4 の配列情報を組み合わせて、ADE4 内部の基質の動きを分子動力学シミュレーションで解析し、顆粒形成による ADE4 活性化のメカニズムを探索する。

## 7. 共同研究の成果

### (1) 分子動力学シミュレーションによる ADE4 の解析

分子動力学シミュレーションを用いた解析により、ADE4 の酵素反応過程の分子動態を明らかにした。ADE4 はグルタミンを代謝し、グルタミン酸とアンモニアを生成する。この時、アンモニアは疎水チャネルとよばれるタンパク質内部の経路を通過して解離するという仮説が結晶構造についての研究において提唱されていた。しかし、アンモニアの解離過程を実験によって観察することは困難であるため、分子動力学シミュレーションによって高い時空間分解能での解明を試みた。

分子動力学シミュレーションによってアンモニアの解離過程を検証した結果、これまでの仮説とは異なる部位からアンモニアが解離することを明らかにした。また、一過性のアンモニア解離チャネル形成に関わるアミノ酸残基を複数箇所同定し、変異型についてのシミュレーションを行った。その結果、変異によってアンモニア解離効率が増減することを明らかにした。これらの点変異については酵母細胞を使った実験によって追加の検証を進めている。代謝過程のシミュレーションから考えられるモデルは、ADE4 が顆粒を形成して効率よく反応を行うという仮説に合致していると考えられる。

### (2) ADE4 顆粒形成の生理的意義の解析

野生株と顆粒形成できない *ade4* 変異株の生育曲線を計測して、ADE4 顆粒形成と酵母の増殖速度の関係について定量的に検証した。変異体では野生株と比較して増殖速度が低下していた。また変異株における増殖遅延は培地中のアンモニア濃度が低下するほど顕著であった。これらの結果は ADE4 が環境中のアンモニアも代謝できること、およびアンモニアが乏しい環境では顆粒形成によるグルタミン由来のアンモニアの効率的な代謝がより重要になることを示唆している。

8. 共同研究成果の学会発表・研究論文発表状況及び本研究所担当教員との共同研究に関する情報交換（本研究所の担当教員の氏名の記載のある論文，又はこの共同研究に基づくとの記載のある論文等を記載して下さい。なお，論文の場合は，別刷りを1部提出して下さい。）

①本研究所の担当教員の氏名の記載のある論文

なし

②この共同研究に基づくとの記載のある論文

なし

③学会発表を行った主なもの3件以内(学会名、開催日、演題)

1. 酵母遺伝学フォーラム（オンライン）、2021年8月31日、「出芽酵母 Ade4 の細胞内顆粒が形成されるメカニズムの解明」

④本研究所担当教員と申請代表者との共同研究に関する情報交換の状況(主なやり取りを箇条書き)

- ・状況を鑑み、オンラインでの打ち合わせを行った。
- ・メールによる打ち合わせおよびデータの共有を行った。
- ・実験データとシミュレーション結果についての情報を相互に反映させて方針を検討した。