

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 5 年 4 月 19 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4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 4 年 4 月 1 日 ~ 令和 5 年 3 月 31 日			
4. 共同研究組織				
氏 名	所属等	職名等	役 割 分 担	
(研究代表者) 森田 陸離	筑波大学 計算科学研究センター	研究員	分子動力学法による 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 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、枠を自由に変更できます(横幅は変更不可)。6, 7, 8の項目全体では2頁に収めてください。

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。私達の研究グループではこれまでに 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 の機能解析

ADE4 がアンモニアを代謝し、分子間でやり取りを行う可能性について計算した。過剰なアンモニアを添加した条件でのシミュレーションを行ったが ADE4 は構造変化を示さなかった。このことからアンモニア自体が ADE4 の活性を制御しているのではなく、他の因子によって制御されている可能性が示唆された。また、いくつかのアミノ酸点変異体についても計算を行った。ADE4 の代謝に関わるアミノ酸残基の変異はアンモニアの解離確率を低下あるいは上昇させることから、本研究で示唆されるメカニズムの妥当性が確認された。また、これについては酵母を用いた実験による検証を行った。

(2) ADE4 顆粒生成の生理的意義の解析

高分子化合物によって細胞内の混み合い環境を再現した実験を行った。この環境では ADE4 が顆粒を形成することを確認できた。この顆粒は阻害剤の添加により速やかに阻害されることから、タンパク質の凝集ではなく可逆的な集合体としての顆粒であることが示唆された。

また、代謝に影響を与えるアデニンの添加により細胞内にどのような代謝物変化が生じるかを質量分析によって明らかにした。アデニンの添加で上昇する化合物の中には、ADE4 の活性や顆粒形成に影響を与える可能性のある化合物が含まれていた。

8. 共同研究成果に関連する学会発表・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

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)

- 酵母遺伝学フォーラム、2022 年 9 月 8 日、「プリン合成酵素 Ade4 の細胞内顆粒が形成されるメカニズムと生理的意義の解明」

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おこなった
- 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
- 論文の投稿にむけて原稿の作成および内容の確認を行った