

研究区分	教員特別研究推進 地域振興
------	---------------

研究テーマ	リンパ腫の新たな治療戦略に向けたタンパク質構造基盤				
研究組織	代表者	所属・職名	薬学部・准教授	氏名	原 幸大
	研究分担者	所属・職名		氏名	
		所属・職名		氏名	
		所属・職名		氏名	
	発表者	所属・職名	薬学部・准教授	氏名	原 幸大

講演題目
染色体凝縮を担うコンデンシン II のアンカーサブユニットのクライオ EM 測定
研究の目的、成果及び今後の展望 本研究では、脊椎動物由来コンデンシン II の制御サブユニットの構造をクライオ電子顕微鏡単粒子解析により決定し、染色体の再構成系を用いた構造機能相関解析を通して、菌類のモデルでは説明できない脊椎動物特有の染色体凝縮の作用機序を原子レベルで明らかにする。コンデンシン I・II は分裂期染色体を構成する主要なタンパク質複合体であり、コンデンシン I は菌類から脊椎動物まで広く保存されているのに対して、コンデンシン II は菌類には存在せず、脊椎動物や昆虫、植物、原始紅藻だけが持つ。両者の分子活性を比較すると、コンデンシン I は染色体凝縮に必須のクロマチンループの形成を担うメインプレーヤーとして働く反面、コンデンシン II によるクロマチンループ形成能は低い。近年、コンデンシン II の抑制因子の機能不全に伴うコンデンシン II の過剰な活性化が非分裂期における異常に凝縮した染色体の形成やリンパ腫を引き起こすことが報告された。コンデンシン II の分子活性を担う制御サブユニットの形成に重要な相互作用を解明し、その相互作用を破綻させる化合物の探索や設計を行うことでリンパ腫を治療する新たな治療戦略が可能となる。 コンデンシン II はコアサブユニット (SMC2、SMC4) とモーターサブユニット (CAP-D3-H2)、アンカーサブユニット (CAP-G2-H2) で構成される。これらのサブユニットのうち、コアサブユニットはコンデンシン I と共通のサブユニットである。従って、両者の分子活性の違いを生み出しているのは、モーターとアンカーサブユニットであり、特にクロマチンループ形成に必須のアンカーサブユニットが機能に重要である。従って、今年度は脊椎動物由来 CAP-G2-H2 複合体の調製とクライオ EM 測定を重点的に行った。具体的には、CAP-G2 と CAP-H2 の組換えタンパク質を大腸菌で共発現させ、ヘパリンカラム、陰イオン交換カラム、ゲルろ過カラムクロマトグラフィーを用いて、複合体を精製した。その後、横浜クライオ電子顕微鏡施設が所有する 200kV クライオ電子顕微鏡 Tecnai Arctica で測定を行い、解像度は低いものの釣り針状の密度が得られた。得られた密度図に対して、AlphaFold3 (DeepMind 社) により生成した予測構造を当てはめると、CAP-G2 の C 末端領域の密度が観測できなかった。理由として、熱的なゆらぎを持つディスオーダーループの存在が考えられる。実際に、CAP-G2-H2 組換えタンパク質の安定性を評価したところ、CAP-G2 は N 末端ドメインと C 末端ドメインに分解することがわかった。現在、このループを欠損させることで、熱力学的により安定な組換えタンパク質を調製することができたことから、今後、新たに構築したループ欠損変異体を用いて、原子レベルでの単粒子構造解析、あるいは結晶構造解析を目指す。