

研究区分	教員特別研究推進 独創・先進的研究
------	-------------------

研究テーマ	凝集したヌクレオソームの緩和を促進するユビキチンリガーゼの構造生物学的解明				
研究組織	代 表 者	所属・職名	薬学部・講師	氏名	菱木 麻美
	研究分担者	所属・職名	薬学部・教授	氏名	橋本 博
		所属・職名		氏名	
		所属・職名		氏名	
	発 表 者	所属・職名	薬学部・講師	氏名	菱木 麻美

講演題目
凝集したヌクレオソームの緩和を促進するユビキチンリガーゼの RING ドメインの結晶化
研究の目的、成果及び今後の展望 真核細胞のクロマチンの構造単位はヌクレオソームであり、H2A, H2B, H3, H4 の 8 量体コアに巻きついた約 146 塩基対のゲノム DNA で構成される。クロマチン構造は転写制御と密接に関与し、クロマチン修飾は、細胞の増殖、分化、細胞周期のためのエピジェネティックマークとなる。コアヒストンを形成する H2A は高い配列多様性を示し、哺乳類では最も多くのバリエーションが報告されている。macroH2A (mH2A) は、ヒストンドメイン、ADP リボース結合能を持つマクロドメイン、それらをつなぐリンカー領域で構成される H2A バリエーションの一つであり、不活性化された X 染色体や細胞老化特異的ヘテロクロマチンに局在することから転写制御に関与していると考えられ、実際、試験管内で転写を抑制することが報告されている。本研究対象の TRIM59 は、TRIM スーパーファミリーに属し、RING ドメイン、B-box ドメイン、コイルドコイルドメインで構成される 403 アミノ酸残基のユビキチンリガーゼであり、mH2A を基質とする。TRIM59 によりポリユビキチン化された mH2A は、プロテアソームによる分解経路に誘導されるため、凝集したヌクレオソーム構造が緩和し、DNA の転写が活性化される。TRIM59 は頭頸部がんで過剰発現しており、TRIM59 による mH2A のポリユビキチン化は、がん細胞の増殖を亢進すると考えられる。TRIM59 と mH2A の相互作用メカニズムの解明は、頭頸部がんの新規抗がん薬の開発に資すると考えられるが、これまでに TRIM59 は、部分構造も含めて立体構造は報告されておらず、mH2A との相互作用に関する構造基盤も得られていない。そこで、TRIM59 単体および TRIM59-mH2A 複合体の構造解析を目標に、今年度は TRIM59 の RING ドメインの試料調製と結晶化条件の探索を行った。 TRIM59 の RING ドメイン（以下、TRIM59RING）は、大腸菌 BL21 (DE3) を用いて GST 融合タンパク質として発現させた。複数のカラムクロマトグラフィーにより高純度に精製する方法を確立し、得られた TRIM59RING を用いて結晶化条件を探索した。さらに結晶化条件を最適化し、茨城県つくば市の放射光施設フォトンファクトリー（PF）BL-5A で X 線回折強度データを収集した。これまでに 3.8 Å 分解能の回折強度データを得ているが、結晶の品質が低く構造決定には至っていない。今後は X 線回折実験を行う際の抗凍結条件を詳細に検討するとともに、TRIM59RING の発現領域の改良を進め、結晶構造解析を目指す。