

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

研究テーマ	2つの経路で腫瘍細胞の増殖を維持するユビキチンリガーゼの構造解析				
研究組織	代表者	所属・職名	薬学部・助教	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・助教	氏名	菱木 麻美

講演題目	異性化酵素 PIN1 による TRIM59 の認識機構の解明に向けた結晶化
------	---------------------------------------

研究の目的、成果及び今後の展望	<p>がんをはじめとする多くの疾患は、シグナル伝達の制御破綻に起因している。本研究対象の TRIM59 は、固形がんの 70% で活性化している STAT3 の活性維持に関与する。STAT3 はリン酸化修飾を受けて活性化する転写因子であり、細胞増殖に関与する Cyclin D1 や細胞死抵抗性を示す Bcl-2 などの遺伝子の転写を促進する。そのため、がん細胞における STAT3 の活性化は、腫瘍の増大、浸潤、転移などを引き起こす。TRIM59 は、RING, B-box, コイルドコイルの 3 つのドメインで構成されるが、①コイルドコイルドメインは STAT3 と相互作用して STAT3 の脱リン酸化を阻害し、②RING ドメインは転写を抑制するヒストンバリエント macroH2A をポリユビキチン化して分解に導く。TRIM59 はこれら 2 つの経路で直接および間接的に STAT3 による転写活性を維持している。TRIM59 が STAT3 の活性を維持するために、TRIM59 は、Ser308 がリン酸化され、PIN1 により異性化されて核内に移行する必要がある。TRIM59 による STAT3 の活性維持を回避することは、がん治療の新しいアプローチであり、TRIM59 の構造基盤を解明することは新規抗がん薬の開発に資する。これまでに TRIM59 は、部分構造も含めて構造報告例は全く無い。本研究では、異性化酵素 PIN1 による TRIM59 の原子レベルでの認識機構を明らかにすることを目的に、PIN1 と TRIM59 の相互作用解析と結晶化を行った。</p> <p>GST タグを融合した PIN1 タンパク質を大腸菌で発現させ、アフィニティーカラム、イオン交換カラム、ゲル濾過カラムを用いて高純度に精製した。TRIM59 は GST タグ、His タグを融合した様々な領域の発現ベクターを構築し、調製した。精製した PIN1 と TRIM59 を用いてプルダウンアッセイで相互作用を確認したところ、特異的な結合を検出することはできなかった。そのため、条件の再検討が必要である。次に、精製した PIN1 タンパク質と、リン酸化 Ser308 を含む TRIM59 のペプチドとの共結晶化スクリーニングを行い、粗結晶を得た。今後は得られた結晶化条件を最適化する。また、浸漬法による PIN1 と TRIM59 ペプチドとの複合体の結晶を調製するため、PIN1 単体の結晶化を行っている。こちらも結晶化条件を最適化し、浸漬条件を検討する予定である。</p>
-----------------	---