

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

研究テーマ	ミスマッチ修復の反応場を形成するミスマッチセンサーの構造生物学的解明				
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	薬学部・教授	氏名	橋本 博
		所属・職名	九州大学大学院理学研究院・教授	氏名	高橋 達郎
		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	ミスマッチ修復の反応場を形成するクロマチンリモデラーのクライオ EM 測定
------	---------------------------------------

研究の目的、成果及び今後の展望	<p>本研究では、ミスマッチ塩基対を認識し、クロマチンリモデラーと共に損傷部位周辺のヌクレオソームを排除することで修復酵素が DNA 領域にアクセスし、働くための反応場を作るミスマッチセンサーの組換えタンパク質を再構成し、X 線結晶構造解析によりその立体構造を原子レベルで明らかにする。ミスマッチ修復酵素が誤りを含む DNA を削り取るには、ヌクレオソームからほどかれた数百塩基以上のむき出しの DNA 領域が必要である。近年、九州大学大学院理学研究院 高橋教授（研究分担者）らにより、ミスマッチセンサー依存的なクロマチンリモデリング活性がミスマッチ修復の際のヌクレオソーム排除に不可欠であることが示された (Terui <i>et al.</i>, <i>Genes Dev.</i>, 2018)。また、ミスマッチセンサーの機能不全は大腸がん患者のアルキル化剤やプラチナムに対する薬剤耐性を招くため、遺伝子検査の分子標的となる。しかし、ミスマッチセンサーの研究はこれまでミスマッチ塩基対の認識メカニズムに焦点を当てたものがほとんどであり、ミスマッチセンサーが損傷部位周辺のヌクレオソームをどのように排除するのかを調べた構造研究は無い。構造解析によるクロマチンリモデラーとの相互作用の解明は、損傷部位周辺のヌクレオソームを選択的に排除し、修復するための反応場の形成メカニズムを明らかにするだけでなく、抗がん剤耐性を防ぐより効果的なテーラーメイド治療戦略が可能となる。</p> <p>本年度は好熱性糸状菌ホモログのミスマッチセンサーの構造解析に向けて、組換えタンパク質の発現系の構築を進めているが、当初計画していた大量調製システムの構築には未だ至っていない。引き続き、発現系の検討を行う。一方で、ミスマッチセンサーと相互作用するクロマチンリモデラーについては好熱性糸状菌ホモログを利用することで全長の組換えタンパク質の調製に成功した。得られた組換えタンパク質を用いて、結晶化条件を探索しているが現在までに結晶は得られていない。組換えタンパク質の溶液中での物性を評価するために、ゲルろ過カラムクロマトグラフィーによる分散性の評価、及びクライオ EM 測定を行った。その結果、クロマチンリモデラーは溶液中で均一な単量体として存在しているものの、N 末端側に構造を持たない広大な天然領域（全体の 50%程度）が存在するため、クライオ EM 測定では本来の分子量に相当する単粒子を確認することができなかった。クロマチンリモデラーの N 末端領域にミスマッチセンサーとの相互作用部位が存在することから、ミスマッチセンサーに結合することで、熱力学的に安定な複合体を形成できる可能性が高い。</p>
-----------------	--