

平成21年 5月 1日現在

研究種目：学術創成研究費

研究期間：2006～2010

課題番号：18GS0316

研究課題名（和文） 生体内代謝産物をモニターする転写制御機構の構造基盤

研究課題名（英文） Structural basis of functional coupling between transcription and cellular metabolism

研究代表者

森川 耿右 (MORIKAWA KOSUKE)

大阪大学・蛋白質研究所・特任研究員（客員教授）

研究者番号：50135513

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：生物科学・機能生物化学

キーワード：核内受容体、脂肪酸代謝物、転写共役因子、立体構造解析

1. 研究計画の概要

「核内受容体の主要な役割は生体内代謝産物をモニターし調節することにある」という観点から、転写制御を介した生体恒常性維持機構の解明を目指す。この目標に向けて、X線、NMR、電子顕微鏡による立体構造解析、バイオインフォマティクス、細胞生物学的手法などを駆使し、代謝産物による核内受容体活性化機構の構造基盤、核内受容体が認識するリガンドのカタログ化、転写調節複合体の機能解析および構造解析を行なっている。

2. 研究の進捗状況

(1) 脂肪酸による核内受容体活性化機構

生活習慣病との関連が深い核内受容体 PPAR γ に対する内在性リガンドである 15-デオキシプロスタグランジン J2 (15d-PGJ2) が、PPAR γ のリガンド結合ポケットにあるシステインと共有結合することを見いだした。共有結合していない中間複合体には活性がないことから、共有結合反応が受容体活性化の本質である事が結論される。この活性化過程の研究に X 線構造解析を用いて、15d-PGJ2 の共有結合に伴って引き起こされる構造変化を視覚化した。その結果、従来とは異なる新規の活性化機構を原子レベルで提唱することが出来た。

(2) 部分化学構造に基づくリガンドのカタログ化：

タンパク質との複合体立体構造に基づいて低分子リガンドの部分化学構造 (proto group と呼ぶ) を機能モチーフとしてカタログ化し、それぞれの機能モチーフを認識するタンパク質のアミノ酸配置を分類した。その結果、

核内受容体とリガンド代謝酵素間で共通して認識される機能モチーフのカタログ化に成功した。

(3) 細胞のエネルギー状態をモニターする複合体

メチル化ヒストン結合タンパク質であるヌクレオメチリンが、脱アセチル化酵素 SIRT1 とメチル化酵素 SUV39H1 と複合体を形成してリボゾーム DNA のクロマチン状態を変換すること、そしてこの複合体の活性はグルコース濃度に応答する、つまり栄養状態に応答してリボゾーム RNA の転写を調節する事を明らかにした。細胞が自身の栄養状態をセンスし、リボゾーム合成を調節することでタンパク質合成を栄養状態に適応するという古典的な細胞応答機構の分子基盤を世界で初めて明らかにした。

(4) 核内受容体によるがん抑制

核内受容体は DNA に結合することで転写を調節すると考えられてきた。しかしエストロゲン受容体が発がん剤依存性のがんの転移を抑制する際には DNA 結合能を必要としないことが解った。このような DNA 結合に依存しない核内受容体の作用は、タンパク質分解と共役していることが明らかになった。タンパク質分解に関わるユビキチンリガーゼ CHIP をノックダウンするとがん転移が促進されることから、タンパク質分解による活性調節はがん化の転移と密接に関係しており、がん治療にむけた新しい戦略につながる可能性がある。

3. 現在までの達成度

②おおむね順調に進展している。

(理由)

生体内代謝産物の機能モチーフとそれを認識する蛋白質の構造基盤を明らかにし、古典的な転写調節機構とは異なる新しい機構を提唱できた。また新規の核内受容体の機能を発見し、さらにガンの転移との密接な関係を明らかにすることができた。これらの成果は、転写と代謝のカップリング機構の構造生物学という新規学際領域の創出に大きく貢献できたと考えている。

4. 今後の研究の推進方策

PPAR によるリガンド認識に関連した機能構造解析をさらに発展させるため、核内受容体を含む超分子複合体を解析対象として、X線構造解析・NMR・電子顕微鏡単粒子解析等を包括的に利用する構造生物学を中心に研究に挑む計画である。また、詳細が不明であるミトコンドリアの機能をモニターする核内受容体について、その活性調節の分子基盤を解明したい。

5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 4 件)

①Kajiro, M., Hirota, R., Nakajima, Y., Kawanowa, K., So-ma, K., Ito, I., Yamaguchi, Y., Ohie, S., Kobayashi, Y., Seino, Y., Kawano, M., Kawabe, Y. I., Takei, H., Hayashi, S., Kurosumi, M., Murayama, A., Kimura, K. & Yanagisawa, J. The ubiquitin ligase CHIP acts as an upstream regulator of oncogenic pathways. *Nature Cell Biol.* **11**, 312-319 (2009) 査読有

②Waku, T., Shiraki, T., Oyama, T. & Morikawa, K. Atomic structure of mutant PPAR γ LBD complexed with 15d-PGJ2: novel modulation mechanism of PPAR γ /RXR α function by covalently bound ligands. *FEBS Lett.*, **583**, 320-324. (2009) 査読有

③Waku, T., Shiraki, T., Oyama, T., Fujimoto, Y., Maebara, K., Kamiya, N., Jingami, H. & Morikawa, K. Structural insight into PPAR γ activation through covalent modification with endogenous fatty acids. *J. Mol. Biol.*, **385**, 188-199. (2009) 査読有

④Murayama, A., Ohmori, K., Fujimura, A., Minami, H., Yasuzawa-Tanaka, K., Kuroda, T., Oie, S., Daitoku, H., Okuwaki, M.,

Nagata, K., Fukamizu, A., Kimura, K., Shimizu, T. & Yanagisawa, J. Epigenetic control of rDNA loci in response to intracellular energy status. *Cell* **133**, 627-629. (2008) 査読有

[学会発表] (計 4 件)

① Kimura, K. The chromosomal association of condensin II by non-catalytic action of PP2A, MEXT Priority Research Project "Cell Proliferation Control" International Symposium, Nagoya, Japan, February 27 (2009)

② Shiraki, T., PPAR γ activating process through covalent modification by endogenous fatty acids. Lipid Peroxidation, Karuizawa, Japan, October 16 (2008)

③ Morikawa, K., Structural view of PPAR γ activating process through covalent modification by endogenous fatty acids XXII Paulo Foundation:Symposium, INPEC, Naantali Spa, Finland, June 14 (2008)

④ Murayama A., The identification and characterization of a novel nucleolar protein, Nucleomethilin. 20th Wilhelm Bernhard Workshop, St. Andrews, UK, August 28 (2007)

[その他]

マスメディアへの成果公表

(1) "The ubiquitin ligase CHIP acts as an upstream regulator of oncogenic Pathways" (Kajiro et al., *Nature Cell Biol.*, 2009)に関して、平成 21 年 2 月 9 日に読売新聞夕刊に、平成 21 年 2 月 10 日に毎日新聞、日本経済新聞、日刊工業新聞、茨城新聞に掲載。

(2) "Epigenetic Control of rDNA Loci in Response to Intracellular Energy Status (A. Murayama, et al., *Cell*, 2008) に関して、平成 20 年 5 月 19 日に日経産業新聞に、平成 20 年 5 月 30 日に科学新聞に掲載。