

ヒトポリ ADP リボース分解酵素の X 線結晶構造解析 X-ray crystal structural analysis of Human poly-ADP-ribose glycohydrolase

津下英明^{1,*}, 鶴村俊治¹, 吉田徹¹, 津守耶良¹

¹ 京都産業大学総合生命科学部, 〒603-8555 京都府京都市北区上賀茂本山

Hideaki Tsuge^{1,*}, Toshiharu Tsurumura¹, Toru Yoshida¹, Yayoi Tsumori¹

¹ Faculty of Life Sciences, Kyoto Sangyo University,

〒603-8555 Kamigamo-Motoyama, Kita-ku, Kyoto

1 はじめに

ポリ ADP-リボシル化 (poly ADP-ribosylation) はタンパク質の翻訳後修飾の一種で、アデノシン二リン酸 (ADP) リボースを付加する反応である。ポリ ADP-リボシル化は細胞間の情報伝達や DNA 修復、転写調節、ゲノム安定性、細胞死、形質転換など多くの細胞機能に関わっており、いくつかの報告でがんや自己免疫疾患への関与が示されている。ポリ ADP リボシル化酵素 PARP1 は DNA のシングルストランドブレイクを感知して活性化される。一方、重合した ADP リボースの分解はポリ ADP リボシル化分解酵素 (PARG) が行う。現在、PARG の阻害が DNA を標的とするがん治療薬の増感剤となる可能性が考えられ、製薬会社を含むいくつかの研究室で、その阻害剤の探索と結晶構造解析が行われている。

2 実験および結果

大腸菌での PARG 全長(1-976)、PARGdeltaN(420-976)、PARGdeltaN(448-976)を発現の検討を行ってきた。PARG 全長で溶解度が低く濃度 3.7mg/ml で結晶化スクリーニングを行ったが、結晶は得られていない。PARGdeltaN(420-976)では 20mg/ml で結晶化スクリーニングを行い、針状の多結晶が得られた。一方、PARGdeltaN(448-976)ではいくつかの結晶が得られて、回折データの測定を行った。図のような板状(図 1 上)の結晶と微小なロッド型 (図 1 下) の結晶と得て、データ測定を行った。この結果、ロッド型の結晶から 3.1Åまでの回折データを収集して、HKL2000 で処理し、空間群は C222 あるいは C222₁ と決定した (表 1)。PARG 構造は活性ドメイン構造がすでに決定されているが、全長での構造はまだわかっていない。現在、活性ドメイン構造を用いて、分子置換法で位相の決定を行っている。

3 まとめ

PARG 全長 (1-976)、PARGdeltaN(420-976)、PARGdeltaN(448-976)の結晶化を行い、そのうち PARGdeltaN(448-976)について 3.1Åの回折データを取ることができた。



図 1 : PARGdeltaN(448-976)の結晶

表 1 : 回折データの統計値

X-Ray source	PF-AR NW-12A
Wavelength	1.0000 Å
Space group	C222 / C222 ₁
Unit cell parameters	A=38.0, b=65.7, c=139.2, α = β = γ = 90.0
Max. resolution	3.1
Multiplicity	5.7 (5.9)
<I/σ I>	31.1 (6.6)
R-merge	0.09 (0.38)

* tsuge@cc.kyoto-su.ac.jp