

アルギニンメチル化酵素の結晶構造決定

Structural study of PRMT family

藤間 祥子^{1,*}, 長谷川森雄¹, 清水敏之¹

¹東京大学大学院薬学系研究科, 〒113-0033 東京都文京区本郷 7-3-1

Sachiko Toma-Fukai^{1,*} Morio Hasegawa¹ and Toshiyuki Shimizu¹

¹Graduate School of pharmaceutical sciences university of Tokyo, 7-3-1 Bunkyo-ku, Tokyo, 113-0033, Japan

1 はじめに

アルギニンメチル化酵素(PRMT)は、その名の通り、蛋白質のアルギニン残基をメチル化する酵素である。この酵素ファミリーは哺乳動物で広く保存されており、主に核内で働き、シグナル伝達、mRNA のスプライシング、転写制御、DNA 修復、蛋白質の転移などに関与している。これら PRMT の細胞内での重要性にもかかわらず、メチル化活性、基質認識の分子メカニズムの解明はなされていない。

我々は PRMT ファミリーの中でも PRMT 8 と PRMT7 に注目し結晶構造決定のための研究を行っている。PRMT8 は脳内に特異的に発現しており、ファミリーの中でも唯一細胞膜上に局在するというユニークな特徴を持つ。また、PRMT7 は核内で働くが、ファミリーの中で共通な活性ドメインをタンデムに保持しているというこれもまたユニークな特徴を持つ。ドメイン構成のみならず、PRMT7 はアルギニン側鎖に対して、メチル基を1つ結合させるモノメチル化酵素とジメチル化酵素のどちらの活性を持つかも明らかとなっていない。

本申請研究では PRMT ファミリーの結晶構造決定を行い、基質認識、メチル化活性制御機構、酵素活性機構の原子レベルでの解明を目的としている。

2 実験

ヒト PRMT8 について 3.5Å の分解能で構造を決定した。結晶は空間群 C2221 に属し、格子定数は $a=200.9$, $b=132.0$, $c=295.7$ Å, $\beta=106.5$ °であった。位相は配列相関性が高い PRMT1 をサーチモデルとし、分子置換法によって決めた。

線虫 PRMT7 では格子定数 $a=191.4$, $b=191.4$, $c=374.6$ Å で空間群 P3 に属すると推定される結晶を得た。この結晶について 2.4Å 分解能のデータセットを収集した。PRMT7 は既存の類似構造を用いた分子置換法では位相を決定できなかったため、重原子置換法による位相決定を目指し、重原子置換体のデータ収集を行った。

3 結果および考察

ヒト PRMT8(分子量 38K)は非対称単位内に 15 個存在し、2つの分子が1つのユニットとなってらせん状に配置していた。PRMT8 にみられたらせん構造はこれまで報告された PRMT ファミリーにはない

合状態であった。変異体を用いた生化学的実験および、培養細胞を用いた実験から、らせん状に集合することがメチル化活性および PRMT8 の細胞膜上への局在に必須であることが明らかとなった。

線虫 PRMT7 については、2.4Å の分解能の構造が得られたが、非対称単位に分子量約 70K の分子が 20 個程度存在することが予測された。Se-Met 置換体や重金属置換体を調製し構造決定を目指しているが、未だ構造決定にはいたっていない。

4 まとめ

本研究で PRMT8 の立体構造を決定することができた。PRMT8 は、今後、膜上でのメチル化基質との複合体結晶構造決定を目指す計画でいる。PRMT7 については、回折データ収集は行えたが、構造決定には至っていない。今後は位相決定を行い、核内基質との複合体構造を決定するとともに、生化学実験もおこなってゆく計画である。

謝辞

測定実験の際に、きめ細やかな対応やアドバイスをいただき大変お世話になりました。この場をお借りして感謝いたします。

* tomas@mol.f.u-tokyo.ac.jp

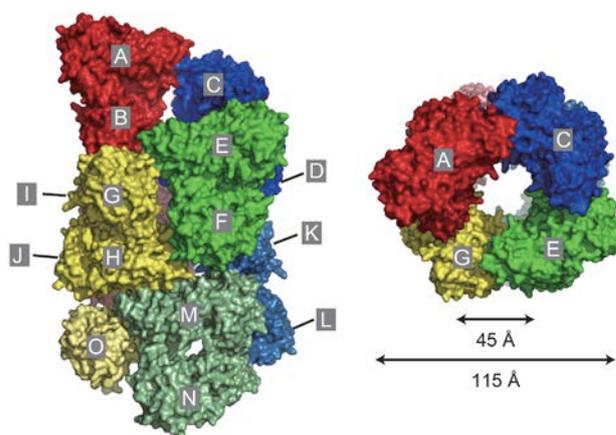


図 1 PRMT8 の非対称分子内での集合構造