

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

蛋白質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 PRMT₈ 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、ファミリー内で唯一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(Type III 活性)を持つ。

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

線虫由来の PRMT7(CePRMT7)について P3₁ と P4₃2₂ の異なる晶系において、各々コファクター SAH との複合体構造を 2.4, 2.2Å の分解能で決定した。

3 結果および考察

どちらの晶系においても、その単量体構造はタンデムに並んだコアダメインがコアダイマー構造を形成する新規構造をとっており、P3₁ でみられた N 末端のβ-シートが P4₃2₂ の結晶では見られなかったという点以外はほぼ同一であった。CePRMT7 の各ドメインのトポロジーは、β-バレルドメインとダイマリゼーションアームで多少の差異が見られたが、既知の PRMT のものと似ていた。SAH は N 末端側の活性部位にのみ見られ、C 末端側の活性部位では PRMT に高度に保存されている GxGxG ループとダブル E ループが結合部位と予想される位置を占めていた。そこで、得られた構造をもとに変異体を作成

し、SAM 結合実験を行った結果、CePRMT7 のコファクター結合部位は N 末端のコアダメインのみであろうことを示した。また、CePRMT7 のアルギニン結合ポケットの大きさを PRMT1、5 と比較したところ、CePRMT7 では最小であることを示した。アルギニン結合ポケットの小ささに加え、C 末端側活性部位の不活性が PRMT7 の Type III 活性に寄与しているという反応モデルを提唱した[1]。

4 まとめ

本研究で PRMT7 のコファクター複合体立体構造を決定することができた。基質蛋白複合体との構造解析を目指し、メチル化機構の解明を進める。PRMT₈ については、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。

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

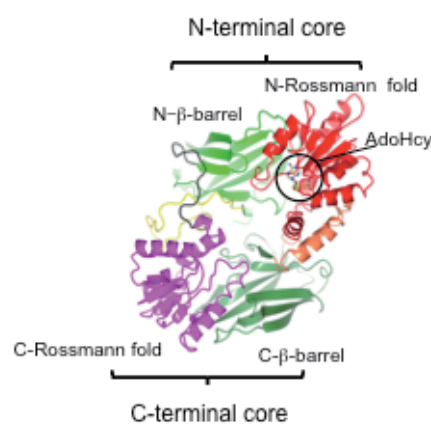


図 1 PRMT7 の構造

参考文献

[1] Morio hasegawa, Sachiko Toma-Fukai, Jun-Dal Kim, Akiyoshi Fukamizu, Toshiyuki Shimizu. FEBS Lett. 588(10):1942-8.