

## FAAP20 UBZ ドメインによるユビキチン認識の構造的基盤 Structural basis for ubiquitin recognition by UBZ domain of FAAP20

東間彩<sup>1,2</sup>, Tomio S. Takahashi<sup>1</sup>, 佐藤裕介<sup>1,2,\*</sup>, 山形敦史<sup>1,2</sup>, 伊藤桜子<sup>1</sup>, 深井周也<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> 東京大学放射光連携研究機構, 〒113-0032 東京都文京区弥生 1-1-1

<sup>2</sup> 東京大学大学院新領域, 〒277-8561 千葉県柏市柏の葉 5-1-5

Aya Toma<sup>1,2</sup>, Tomio S. Takahashi<sup>1</sup>, Yusuke Sato<sup>1,2,\*</sup>

Atsushi Yamagata<sup>1,2</sup>, Ito Sakurako<sup>1</sup>, Shuya Fukai<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>SRRO, The Univ. of Tokyo, 1-1-1 Yayoi, Bunkyo-ku, Tokyo, 113-0032, Japan

<sup>2</sup>Grad. Sch. of Frontier Science, The Univ. of Tokyo, 5-1-5 Kashiwanoha, Kashiwa-shi, Chiba, 277-8561, Japan

### 1 はじめに

DNA 損傷の一つである DNA 鎖間架橋は、複製や転写といった細胞の増殖に必須な機能を阻害するため、毒性が非常に高い。白血病などの高発癌性、発生異常、骨髄機能不全、染色体不安定性、クロスリンク剤への高感受性といった症状に特徴づけられるファンconi貧血の原因遺伝子として見つかった Fanconi anemia (FA) タンパク質群が、哺乳類では DNA 鎖間架橋修復を行う。近年、新しく発見された FA タンパク質群の一つである FAAP20 が、その C 末端側に存在する ubiquitin-binding zinc finger (UBZ) ドメインを用いてユビキチンと相互作用することが、FA タンパク質群の DNA 損傷箇所への集積に重要な役割を果たすことが示唆された。また、DNA 損傷箇所には K63 結合型ポリユビキチン鎖が合成されることが知られているが、FAAP20 の UBZ ドメインは K63 ポリユビキチン鎖特異的に結合するという数件の報告があった。本研究では、FAAP20 UBZ ドメインと K63 結合型ジユビキチン (K63-Ub<sub>2</sub>) 複合体の X 線結晶構造解析による、FAAP20 によるユビキチン鎖認識のメカニズム解明を目的として行った。

### 2 実験

大腸菌を用いた発現系を用いて、ヒト FAAP20 の UBZ ドメインを発現させ、精製した。その後、K63-Ub<sub>2</sub> と結合させ、ゲルろ過による精製後、複合体の結晶化を行った。

得られた結晶を用いて PF にて X 線回折測定を行った。ユビキチン単量体 (PDBID:1UBQ) による分子置換法で位相決定を行った。

### 3 結果および考察

結晶構造中で、FAAP20 の UBZ ドメインは 2 つの繋がったユビキチン分子のうち、片方としか結合しておらず、さらに GST プルダウンアッセイおよび表面プラズモン共鳴測定装置を用いた相互作用解析結果から、FAAP20-UBZ はユビキチン鎖に対する特異性はない事が確認できた。一方、FAAP20 の UBZ

ドメインによる詳細なユビキチン認識機構を明らかにした。

FAAP20 の UBZ ドメインは 1 本の  $\alpha$  ヘリックスと、N 末端側、C 末端側の 2 つのループから成る構造で、N 末端側のループで亜鉛原子を配位していた。一方、 $\alpha$  ヘリックスと C 末端側のループがユビキチンの認識に関わっていた。C 末端側のループは他の UBZ ドメインには存在せず、FAAP20 の UBZ ドメインのみによく保存された領域であるが、この領域が FAAP20 とユビキチンとの結合に必須であることが構造からも明らかとなった。

現在、得られたデータを国際的な学術誌に投稿中である。

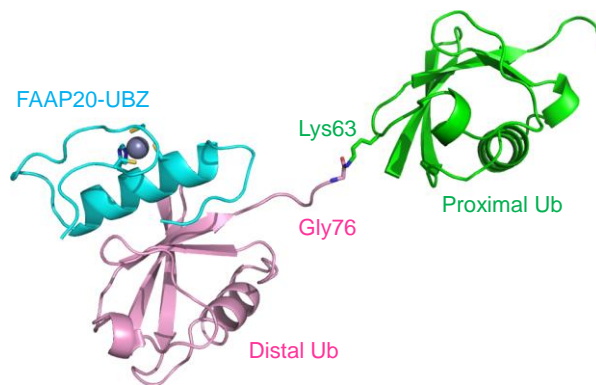


図1 : FAAP20 UBZ と K63-Ub<sub>2</sub> 複合体の結晶構造

### 4 まとめ

UBZ ドメインによるユビキチン認識メカニズムが初めて明らかとなった。現在、この成果を国際的な学術誌に投稿中である。

### 謝辞 (オプション)

PF ビームラインスタッフの方々には大変お世話になりました

\* yusato@iam.u-tokyo.ac.jp