

科学研究費補助金（学術創成研究費）公表用資料
〔研究進捗評価用〕

平成18年度採択分

平成21年 4月27日現在

研究課題名：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：Structural basis of functional coupling between transcription and cellular metabolism

研究代表者：森川 耿右 (KOSUKE MORIKAWA)

大阪大学蛋白質研究所 客員教授



推薦の観点： 創造的・革新的・学際的学問領域を創成する研究

研究の概要：「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。

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. 研究開始当初の背景

タンパク質の機能-構造に関する研究は、遺伝子構造、アミノ酸配列特性、立体構造特性、そして各々の立体構造が担う機能を分類整理する過程を経て礎が築かれてきた。一方、メタボローム解析から、細胞内部で個々の生体分子がどのように修飾され機能性代謝産物に変換されるかという道筋が明らかにされつつある。したがって、集積されつつある膨大な代謝産物データから新たな代謝化合物の構造機能相関を抽出し、またタンパク質との相互作用やその機能制御機構を立体構造の観点から解明する研究が重要である。即ち、生体の恒常性維持の分子機構を解明するうえで低分子代謝産物の構造と機能について新たな基本的概念の創成が必要である。

2. 研究の目的

メタボローム研究と同期して、これまで単なる代謝中間体と思われていた化合物が、基質不明のオーファン受容体のリガンドである

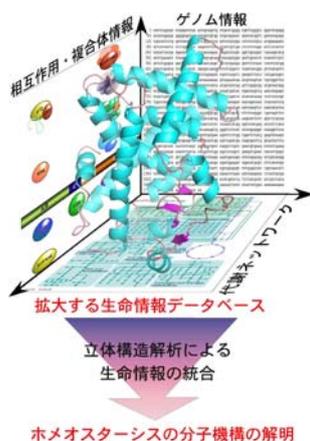
ことが判明しつつあり、核内受容体や GPCR 等の膜受容体の研究の重要性が認識されている。また、細胞核内に目を向ければ、転写制御複合体の構成成分として代謝酵素が含まれている事実が次々と明らかにされている。これらは、**代謝調節と転写調節が互いに密接な関係を保ちながら生体の恒常性を維持する分子機構**の存在を示唆する。そこで我々は、代謝産物（主として脂質代謝物）をモニターする転写制御機構の解明を目指す。

3. 研究の方法

生体内代謝産物の骨格構造と蛋白質の特異的認識機構を原子レベルで解明し、代謝産物に含まれるユニット構造と対応する機能を分類整理（カタログ化）する。具体的には、X線解析、NMR、電子顕微鏡等の立体構造解析技術と生化学的手法を併用する研究アプローチを**脂質代謝ネットワークと転写ネットワークの分子論的実体である超分子複合体に適用し、これら二つのネットワーク間のカップリング機構を立体構造の視点から解明する。**

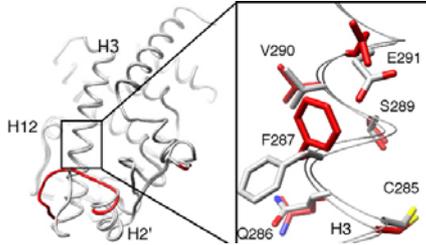
4. これまでの成果

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、



〔4. これまでの成果 (続き)〕

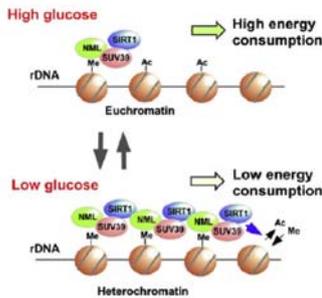
共有結合反応が受容体活性化の本質である事が結論される。この活性化過程の研究に X線構造解析を用いて、15d-PGJ₂ の共有結合に伴って引き起こされる構造変化を視覚化した。その結果、従来とは異なる新規の活性化機構を原子レベルで提唱することが出来た。



15d-PGJ₂ の共有結合による構造変化

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。

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。



細胞のエネルギー状態をモニターするタンパク質複合体によるリボゾームRNAの転写調節機構

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はリガンド依存性ながんの転写を抑制する際には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。

以上、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、さらにがん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。

5. 今後の計画

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して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。

6. これまでの発表論文等

原著論文

- 1: Kajiro, 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)
 - 2: Waku, 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)
 - 3: Waku, 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)
 - 4: Murayama, 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)
- その他、海外招待講演 7 件など