

提出日:2025 年 6 月 9 日

2024 年度 Bio-SPM 技術共同研究事業

研究成果の概要

実験課題名		ゲノムに存在する新規リピート配列と核内受容体の直接結合	
申請者 (実験責任者)	氏名	松島 綾美	
	所属機関名・部局名	大学院理学研究院化学部門 構造機能生化学研究室	
	職名	教授 (採択時 准教授)	
利用した Bio-SPM 技術 (該当の技術の右欄に○)			原子分解能/3D-AFM
		○	高速 AFM
			SICM
			細胞測定 AFM
NanoLSI 受入担当教員名		Richard Wong 先生	
女性ホルモンであるエストロゲンの受容体は、標的遺伝子のエンハンサー領域に直接結合し、転写翻訳を直接制御する転写因子である。これは、エストロゲン依存性遺伝子発現を制御する代表的な核内受容体であり、乳がんなどのホルモン依存性がんに深く関与している。しかし、従来の構造解析では、このエストロゲン受容体 α ($ER\alpha$) の一部である DNA 結合ドメイン (DBD) やリガンド結合ドメイン (LBD) の構造は明らかにされていたが、全長タンパク質としての動的挙動や、DNA 上での遺伝子ターゲット探索行動については未解明であった。エストロゲン受容体が認識するエンハンサーの配列は、ダイレクトリピートあるいはインバースリピートといった、DBD が二量体として結合するための配列をとる。そこで、本研究では、エストロゲン受容体 α ($ER\alpha$) が遺伝子発現を制御する際にどのようにこれらの DNA に結合するかというメカニズムを、高速原子間力顕微鏡 (High-Speed Atomic Force Microscopy, HS-AFM) を用いて分子レベルでリアルタイムに観察することを目指すとした。まず、完全長の $ER\alpha$ を昆虫細胞を用いて発現・精製した。$ER\alpha$ には、天然変性領域 (intrinsically disordered region; IDR) とよばれる領域が、$ER\alpha$ の C 末端と N 末端の両方に存在する。そのため、昆虫細胞における強制的な発現過程では、内在のプロテアーゼで切断される傾向が高い。そのため、発現条件を最適化して発現精製を行い、完全長の $ER\alpha$ を得た。この完全長 $ER\alpha$ を用いて、まずは既知の人工的なエストロゲン応答配列としてしられるリピート配列に、どのように接近し、どのような構造変化を伴って結合するかを時系列で観察した。本研究により、$ER\alpha$ はエストロゲンが存在しなくても ERE に結合可能であるが、リガンド (エストロゲン) が存在することでより高精度かつ安定な結合が起こることが明らかとなった。内在リガンドのエストロゲンの非存在下でも DNA に結合できることは、試験管内 <i>in vitro</i> の過去の研究や、抗体を用いた $ER\alpha$ クロマチン免疫沈降でも報告されており、これらに合致する成果であった。特に注目すべきは、$ER\alpha$ がエストロゲン応答配列に結合する際に、DNA 上を滑るように移動して標的配列を探索する様子を観察できたことである。この過程において、エストロゲン受容体の二量体化が促進された。これは、エストロゲン $ER\alpha$ の構造安定性を高め、特異的な DNA 結合を促すことを示しており、従来の静的な理解を大きく刷新するものであり、本事業により HS-AFM 観察が可能となったからこそ得られた成果である。			

※本様式 3 は、“事業成果報告”として、NanoLSI Web サイトにて公開させていただく予定です。
※必ず A4 用紙 1 枚におさめて下さい。 ※提出期限:2025 年 5 月 9 日(金) ※提出の際は PDF 変換して下さい。
※提出先:金沢大学 WPI-NanoLSI Bio-SPM 技術共同研究事業担当係 国岡 E-mail: nanolsi_openf01@ml.kanazawa-u.ac.jp