

2023 年度
創発的研究支援事業 年次報告書

研究担当者	島田 緑
研究機関名	名古屋大学
所属部署名	医学系研究科
役職名	教授
研究課題名	プロリン異性化による立体的ヒストンコードの解明
研究実施期間	2023 年 4 月 1 日～2024 年 3 月 31 日

研究成果の概要

NMR を行い異性化による構造変化を可視化するために、基質となるタンパク質の精製を試みた。GST-tag と融合したタンパク質を大腸菌内で発現させ、タンパク抽出液をグルタチオンアガロースビーズに結合させプロテアーゼで処理して調整した。

次に反応に用いる酵素を大腸菌内で発現させ精製後に機能を確認するために、タンパク抽出液と反応させプルダウンにより相互作用分子との結合を評価した。しかし適切な翻訳後修飾を受けない、あるいは N 末端に融合している GST-tag の影響で、相互作用分子との結合を検出できなかった。そこで His-FLAG-tag と融合させた FKBP 発現用バキュロウイルスを調製し、Sf21 細胞に繰り返し感染させてウイルスを増幅させた。タンパク質を FLAG で精製後、バキュロウイルスで発現させたりコンビナントタンパクは機能的であることを確認できたため、基質と反応させ NMR を行う予定である。PPIase は、コシャペロンとして働く機能とプロリン異性化酵素としての機能を持っているが、酵素活性が生命現象にどの程度重要であるかについてはほとんど不明である。そこで酵素活性変異体を作製し酵素活性に対する影響を確認するとともに相互作用に対する影響を評価した。プロリン異性化酵素活性変異体を作製し、ロックダウン細胞に発現させ、細胞増殖シグナル伝達に必須であるかを検討した。ChIP 実験を実施し、FKBP ロックダウン細胞におけるエピジェネティック修飾変化についても検討した。