

謝辞

本研究は京都大学分子細胞情報学研究室の岩田想教授、The Scripps Research Institute の Raymond Stevens 教授、VU University Amsterdam の Rob Leurs 教授の共同研究として行われた。各ラボのメンバーに深く感謝致します。

- 1) Shimamura, T., Shiroishi, M., Weyand, S., Tsujimoto, H., Winter, G., Katritch, V., Abagyan, R., Cherezov, V., Liu, W., Han, G.W., Kobayashi, T., Stevens, R.C., & Iwata, S. (2011) *Nature*, 475, 65–70.
- 2) Cherezov, V., Rosenbaum, D.M., Hanson, M.A., Rasmussen, S.G., Thian, F.S., Kobilka, T.S., Choi, H.J., Kuhn, P., Weis, W.I., Kobilka, B.K., & Stevens, R.C. (2007) *Science*, 318, 1258–1265.
- 3) Jaakola, V.P., Griffith, M.T., Hanson, M.A., Cherezov, V., Chien, E.Y., Lane, J.R., Ijzerman, A.P., & Stevens, R.C. (2008) *Science*, 322, 1211–1217.
- 4) Wu, B., Chien, E.Y., Mol, C.D., Fenalti, G., Liu, W., Katritch, V., Abagyan, R., Brooun, A., Wells, P., Bi, F.C., Hamel, D.J., Kuhn, P., Handel, T.M., Cherezov, V., & Stevens, R.C. (2010) *Science*, 330, 1066–1071.
- 5) Chien, E.Y., Liu, W., Zhao, Q., Katritch, V., Han, G.W., Hanson, M.A., Shi, L., Newman, A.H., Javitch, J.A., Cherezov, V., & Stevens, R.C. (2010) *Science*, 330, 1091–1095.
- 6) Nonaka, H., Otaki, S., Ohshima, E., Kono, M., Kase, H., Ohta, K., Fukui, H., & Ichimura, M. (1998) *Eur. J. Pharmacol.*, 345, 111–117.
- 7) Shiroishi, M., Kobayashi, T., Ogasawara, S., Tsujimoto, H., Ikeda-Suno, C., Iwata, S., & Shimamura, T. (2011) *Methods*, 55, 281–286.
- 8) Katritch, V., Cherezov, V., & Stevens, R.C. (2012) *Trends Pharmacol. Sci.*, 33, 17–27.
- 9) Peeters, M.C., van Westen, G.J., Li, Q., & Ijzerman, A.P. (2011) *Trends Pharmacol. Sci.*, 32, 35–42.
- 10) de Graaf, C., Kooistra, A.J., Vischer, H.F., Katritch, V., Kuijter, M., Shiroishi, M., Iwata, S., Shimamura, T., Stevens, R.C., de Esch, I.J., & Leurs, R. (2011) *J. Med. Chem.*, 54, 8195–8206.
- 11) Haga, K., Kruse, A.C., Asada, H., Yurugi-Kobayashi, T., Shiroishi, M., Zhang, C., Weis, W.I., Okada, T., Kobilka, B.K., Haga, T., & Kobayashi, T. (2012) *Nature*, 482, 547–551.
- 12) Kruse, A.C., Hu, J., Pan, A.C., Arlow, D.H., Rosenbaum, D.M., Rosemond, E., Green, H.F., Liu, T., Chae, P.S., Dror, R.O., Shaw, D.E., Weis, W.I., Wess, J., & Kobilka, B.K. (2012) *Nature*, 482, 552–556.
- 13) Hanson, M.A., Roth, C.B., Jo, E., Griffith, M.T., Scott, F.L., Reinhardt, G., Desale, H., Clemons, B., Cahalan, S.M., Schuerer, S.C., Sanna, M.G., Han, G.W., Kuhn, P., Rosen, H., & Stevens, R.C. (2012) *Science*, 335, 851–855.
- 14) Rasmussen, S.G., DeVree, B.T., Zou, Y., Kruse, A.C., Chung, K.Y., Kobilka, T.S., Thian, F.S., Chae, P.S., Pardon, E., Calinski, D., Mathiesen, J.M., Shah, S.T., Lyons, J.A., Caffrey, M., Gellman, S.H., Steyaert, J., Skiniotis, G., Weis, W.I., Sunahara, R.K., & Kobilka, B.K. (2011) *Nature*, 477, 549–555.
- 15) Xu, F., Wu, H., Katritch, V., Han, G.W., Jacobson, K.A., Gao, Z.G., Cherezov, V., & Stevens, R.C. (2011) *Science*, 332,

322–327.

島村 達郎

(京都大学大学院医学研究科分子細胞情報学講座)

Structure of histamine H1 receptor

Tatsuro Shimamura (Department of Medical Chemistry and Cell Biology, Kyoto University Faculty of Medicine, Kyoto University, Yoshidakonoe-cho, Sakyo-ku, Kyoto 606-8501, Japan)

ポリユビキチン鎖選択的結合による細胞機能制御

1. ユビキチンとポリユビキチン鎖

ユビキチン (Ub) は 76 残基からなる進化的に非常によく保存されたタンパク質ですべての真核生物に存在する。その構造は球状の領域 (1 から 71 アミノ酸残基の領域) と、ある程度自由に構造変化をおこすループ領域 (72 から 76 アミノ酸残基の領域) からなる¹⁾。Ile44 を中心とした疎水性のパッチが存在し、多くの場合このパッチで様々な受容体と相互作用する²⁾。

Ub はその C 末端グリシン残基を用いて、標的タンパク質リシン残基の側鎖アミノ基とイソペプチド結合を介して結合することでタンパク質の機能を様々に制御する。また、Ub 自身のアミノ基を介して連続的に Ub が繋がることによりポリ Ub 鎖と呼ばれるポリマーも形成する。実際には Ub の七つのリシン残基のアミノ基 (K6, K11, K27, K29, K33, K48, K63) に加えて、N 末端のアミノ基を介して直鎖状に繋がることもあるため、結合に使われるアミノ基の違いによって 8 種類の Ub 鎖が合成される^{3,4)}。この結合様式の違いによって Ub 鎖は様々な構造と機能を持つ。例えば、生体内で最も豊富に存在する K48 結合型 Ub 鎖はプロテアソームによる分解シグナルとしてはたらく⁵⁾。一方、K63 結合型 Ub 鎖は DNA 修復、タンパク質合成、免疫や炎症に関わる細胞内シグナル伝達、受容体の下方制御などのプロセスではたらく^{3,6,7)}。また直鎖状 Ub 鎖も NF- κ B シグナリングの制御に関わることが近年明らかとなってきた³⁾ (図 1)。

生体内には特定の Ub 鎖を選択的に認識するタンパク質が存在し、これらが繋がり方の異なる Ub 鎖を認識することで、それぞれの Ub 鎖は異なる生体内プロセスのシグナ

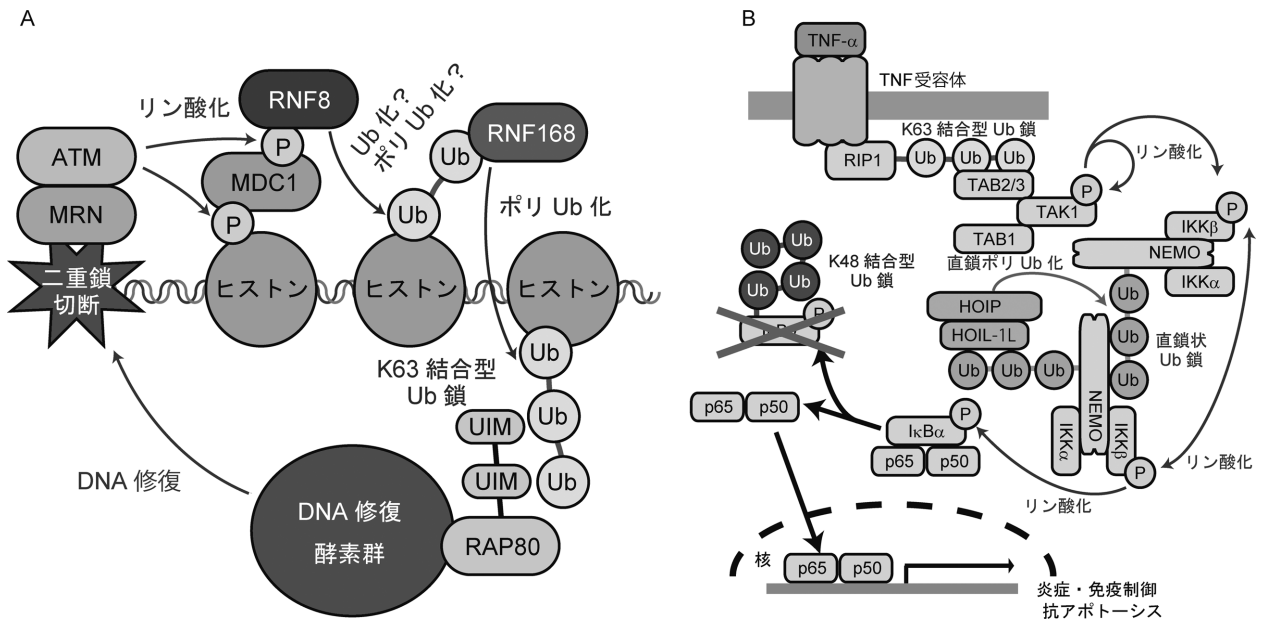


図1 RAP80, TAB2, HOIL-1Lの生体内での役割
(A) DNA損傷箇所におけるRAP80の役割. (B) NF-κBシグナル伝達経路におけるTAB2/3, HOIL-1Lの役割.

表1 受容体とポリUb鎖の解離定数

K_D (μ M)	Ub単量体	K48-Ub ₂	K63-Ub ₂	直鎖状Ub ₂
Npl4	300 ± 3	215 ± 4	336 ± 4	297 ± 2
TAB2	918 ± 35	680 ± 47	64.2 ± 1.0	1096 ± 43
HOIL-1L	462 ± 19	317 ± 19	330 ± 13	17.2 ± 0.1
HOIL-1L (Δ tail)	390 ± 22	487 ± 31	528 ± 28	118 ± 13
NEMO	152 ± 10	169 ± 7	140 ± 3	4.48 ± 0.03

表面プラズモン共鳴装置 (Biacore) を用いて測定した.

ルとしてはたらく (表1). Ub鎖とそれを認識するタンパク質との複合体の立体構造は, 私達のグループの他, 国内外のいくつかのグループにより結晶構造が決定されており, 徐々にその選択的な認識メカニズムが明らかになってきた. 本レビューでは私達のグループが構造決定したRAP80, TAB2, HOIL-1LによるUb鎖の選択的認識メカニズムについて述べる.

2. RAP80によるK63結合型Ub鎖の認識

DNA二重鎖切断が起こると, その近傍にK63結合型Ub鎖が形成される. RAP80にはN末端側に二つ連続したubiquitin interacting motif (UIM)が存在し, この領域を用いてK63結合型ポリUb鎖特異的に結合することで, DNA二重鎖切断部位へと様々なDNA修復酵素群を引き寄せる役割を持つ⁸⁻¹⁰⁾ (図1A). UIMは16残基の α ヘリッ

クスで, UbのIle44を中心とした疎水性のパッチと結合することがNMR解析からわかっていた¹¹⁾. しかし, RAP80の二つのUIMがどのようにK63結合型Ub鎖を特異的に認識しているかは不明であったため, 私達はRAP80の二つ連続したUIMとK63-Ub₂の複合体の結晶構造を決定した¹²⁾ (図2A).

RAP80の二つのUIMの間には9残基のヘリックスからなるinter UIM領域があり, 二つのUIMとあわせて1本のヘリックス構造をとる. また, それぞれのUIMはこれまでにNMRで決定された構造とほぼ同じ様式でUbと結合しており, N末端側UIMが近傍側Ubと, C末端側UIMが先端側Ubと結合する. しかし, 意外なことに二つのUb間リンク (Gly76-Lys63)の直接的な認識は行っていない. ではリンクの直接的な認識無しでどのようにUb鎖の選択をしているのだろうか. 結晶構造中で近傍側Ubのアミノ基のうち, 先端側UbのGly76と結合できる距離にあるのはLys63のみである. それ以外のアミノ基を用いてUb鎖を作った場合, 二つのUbが同時にRAP80の二つのUIMと結合することは不可能, もしくは著しく不安定な状態になる. UIMとUbの結合は単独では弱く²⁾ ($K_D = 0.1 \sim 2$ mM), 二つ同時に結合することで安定な結合になると考えられる. 従って, 二つのUbが同時に結合できるK63結合型Ub鎖のみが選択的にRAP80と結合する.

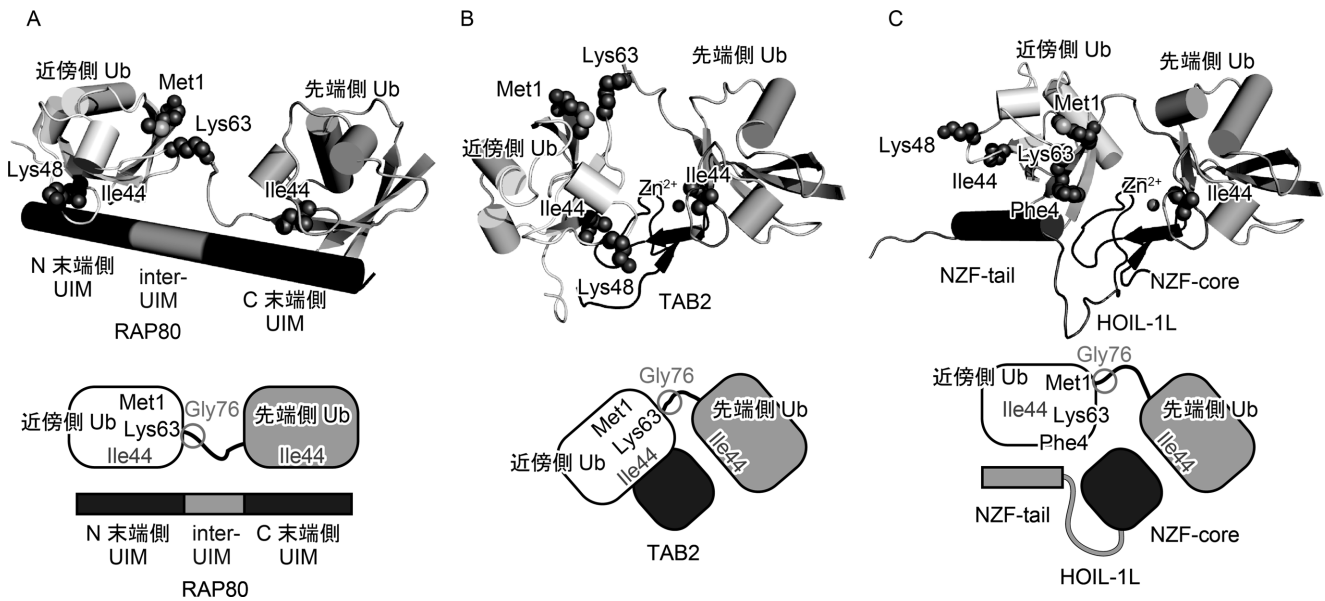


図2 受容体とポリ Ub 鎖の相互作用

上段は結晶構造. 下段は模式図を示した. (A) RAP80 と K63 結合型 Ub 二量体との複合体の結晶構造. (B) TAB2 と K63 結合型 Ub 二量体との複合体の結晶構造. (C) HOIL-1L と直鎖状 Ub 二量体との複合体の結晶構造.

3. TAB2 による K63 結合型 Ub 鎖の認識

免疫・炎症反応の過程で多くの遺伝子の発現誘導に関わる nuclear factor- κ B (NF- κ B) シグナル伝達経路においては K63 結合型, および直鎖状 Ub 鎖が活性化のシグナルとして重要な役割を果たす (図 1B). TNF- α , IL-1 β といったサイトカインにより各種受容体が刺激を受けると細胞内に K63 結合型 Ub 鎖が合成される. TAB2 とそのホモログである TAB3 は Npl4 zinc finger (NZF) ドメインを介して K63 結合型 Ub 鎖に結合し, TAK1 キナーゼ複合体を引き寄せる. TAK1 キナーゼは I κ B キナーゼ (IKK) のサブユニットである IKK β をリン酸化し, リン酸化された IKK 複合体は I κ B α をリン酸化する.

I κ B α はリン酸化されると K48 結合型ポリ Ub 鎖修飾を受け, すみやかにプロテアソームで分解される. これにより I κ B α にマスクされていた NF- κ B (p65-p50) の核移行シグナルが露出し, NF- κ B は核内へ移行し目的遺伝子の転写活性化を行う¹³⁾ (図 1B). NZF ドメインは 30 残基程の亜鉛結合性ドメインで, いくつかの種類の NZF は Ub との結合能を有するが, そのほとんどは Ub 鎖の選択性は持たず, どの Ub 鎖とも同程度の強さで結合する²⁾ (表 1). Ub 鎖の選択性を持たない Npl4 の NZF は Ub の Ile44 を中心とした疎水性のパッチと結合することが NMR 解析で明

らかにされていた¹⁴⁾. しかし TAB2/3 の NZF がどのように Ub 鎖の選択をしているかは不明であったため, 私達は TAB2/3 の NZF ドメインと K63 結合型 Ub 二量体 (K63-Ub₂) の複合体の結晶構造を決定した¹⁵⁾ (図 2B).

TAB2 と TAB3 の構造はほぼ等しいため以降 TAB3 については省略する. TAB2 と Npl4 の NZF ドメインは同様の構造をとっており (r.m.s.d=0.79 Å), さらに, TAB2 と先端側 Ub の結合様式は Npl4 と Ub の結合様式と同様であった. 一方, Npl4 と異なり TAB2 にはそのファミリー間でのみ保存された 2 番目の Ub 結合領域が存在し, ここで近傍側 Ub の Ile44 を中心とした疎水性のパッチと結合していた. また, RAP80 と同様に二つの Ub 間リンクの直接的な認識は行っていないが, 近傍側 Ub の Met1, および Lys48 のアミノ基は先端側 Ub の Gly76 から離れており, Lys63 のみが安定に結合できる距離にある. このため RAP80 の場合と同様に, K63 結合型 Ub 鎖のみ二つの Ub が同時に TAB2 と結合できる. UIM と同様に NZF と Ub の結合も弱く単独では不十分であり (表 1), 二つの Ub が TAB2 の NZF ドメインを挟みこみ, 2ヶ所で結合した場合のみ安定な結合になる. 従って TAB2 の場合は 2 番目の Ub 結合領域を獲得したことで, K63 結合型 Ub 鎖に特異的に結合する.

4. HOIL-1Lによる直鎖状 Ub 鎖の認識

HOIL-1LとHOIPからなるUbリガーゼ複合体LUBAC (linear ubiquitin chain assembly complex) は、直鎖状 Ub 鎖を合成する⁴⁾。生体内では上述の TAK1 キナーゼ複合体によるリン酸化を引き金として、IKK 複合体のサブユニットである NEMO に直鎖状 Ub 鎖を付加する (図 1B)。NEMO 自身が直鎖状 Ub 鎖特異的に結合するため¹⁶⁾、直鎖状ポリ Ub 化された IKK 複合体は互いに寄り集まり、IKK 複合体のサブユニットである IKK β をリン酸化し NF- κ B 伝達経路を活性化する。この一連の反応で、HOIL-1L に存在する NZF ドメインも直鎖状 Ub 鎖を特異的に認識する¹⁷⁾。HOIL-1L と直鎖状 Ub 鎖の結合は LUBAC のポリ Ub 合成活性には直接影響しないが、LUBAC の直鎖状 Ub 鎖の合成が始まった際、そこへ他の LUBAC が次々と寄り集まることでさらにポリ Ub 合成を促進させる効果があると考えられる。

結晶構造解析の結果、HOIL-1L の NZF ドメインは Npl4 や TAB2 と同様な構造を持つ core 領域に加えて、11 残基のループとそれに続く 16 残基のヘリックスからなる tail 領域を持つことがわかった¹⁷⁾ (図 2C)。TAB2 と同様、HOIL-1L の NZF-core による先端側 Ub の認識は Npl4 による Ub の認識と等しかった。さらに、TAB2 とは位置は異なるものの HOIL-1L の場合もそのファミリー間でのみ保存された Ub 結合領域で近傍側 Ub と結合する。興味深いことに、この近傍側 Ub との相互作用は Ub の Ile44 ではなく Phe4 を中心とした領域との疎水性相互作用だった。近傍側 Ub の Phe4 を中心とした領域との相互作用は HOIL-1L 同様直鎖状 Ub 鎖特異性をもつ NEMO の場合でも見られるため、直鎖状 Ub 鎖特異的な受容体に共通に見られる認識機構の可能性もある¹⁶⁾。さらに tail 領域のヘリックス部分も近傍側 Ub と結合していた。これは tail 領域を削ると直鎖状 Ub 鎖に対する HOIL-1L の K_D が 7 倍程度増加するという実験データと一致している (表 1)。RAP80, TAB2 と同様に HOIL-1L も Ub 間リンク (HOIL-1L の場合は Gly76-Met1) の直接的な認識は行っていないが、近傍側 Ub の Lys48 および Lys63 のアミノ基は先端側 Ub の Gly76 から離れており、Met1 アミノ基のみが安定に結合できる距離にある。このため RAP80, TAB2 とは異なり、直鎖状 Ub 鎖のみ二つの Ub が同時に HOIL-1L と結合でき、直鎖状 Ub 鎖特異的な結合をする。従って HOIL-1L は 2 番目の Ub 結合領域を獲得することで、直鎖状 Ub 鎖に特異的に結合し、さらに tail 領域によってその結合を強めている。

5. ま と め

これまでに私達のグループで構造決定した RAP80, TAB2, HOIL-1L に加え、若槻教授のグループで決定された NEMO については結晶構造から Ub 鎖の特異性のメカニズムが明らかになっている。その結果、これらの受容体では Ub 間のリンクは直接認識せずに Ub 鎖の選択を行っていた。その方法は、これらの受容体が Ub との相互作用する領域を 2ヶ所持ち、特定の繋がり方の Ub 鎖の場合のみ、隣接した二つの Ub と同時に結合できるというものであった。過去に私達が決定した K63 結合型 Ub 鎖特異的な脱 Ub 化酵素である AMSH-LP は Ub 間リンクを直接認識していたため、受容体と脱 Ub 化酵素で識別メカニズムが大きく異なるということが示唆された¹⁸⁾。脱 Ub 化酵素についてはまだ AMSH-LP しかその特異性の詳細なメカニズムが明らかになっていない。しかし、生体内には AMSH-LP 以外にも、K63 結合型 Ub 鎖特異的に切断する JAMM ファミリー (亜鉛依存性の脱 Ub 化酵素で AMSH もこのファミリーに属する)¹⁹⁾、K48 結合型 Ub 鎖特異的に切断する OTUB1²⁰⁾ と A20²¹⁾、K63 結合型および直鎖状 Ub 鎖特異的に切断する CYLD²¹⁾、K11 結合型 Ub 鎖特異的に切断する Cezanne²²⁾ といった脱 Ub 化酵素が存在する。Ub 鎖の選択性のメカニズムを解明するためにも、これらの脱 Ub 化酵素と Ub 鎖との複合体の結晶構造の決定が待たれる。

- 1) Vijay-Kumar, S., Bugg, C.E., & Cook, W.J. (1987) *J. Mol. Biol.*, **194**, 531-544.
- 2) Hurley, J.H., Lee, S., & Prag, G. (2006) *Biochem. J.*, **399**, 361-372.
- 3) Wickliffe, K., Williamson, A., Jin, L., & Rape, M. (2009) *Chem. Rev.*, **109**, 1537-1548.
- 4) Tokunaga, F., Sakata, S., Saeki, Y., Satomi, Y., Kirisako, T., Kamei, K., Nakagawa, T., Kato, M., Murata, S., Yamaoka, S., Yamamoto, M., Akira, S., Takao, T., Tanaka, K., & Iwai, K. (2009) *Nat. Cell Biol.*, **11**, 123-132.
- 5) Glickman, M.H. & Ciechanover, A. (2002) *Physiol. Rev.*, **82**, 373-428.
- 6) Hofmann, K. (2009) *DNA Repair (Amst.)*, **8**, 544-556.
- 7) Miranda, M. & Sorkin, A. (2007) *Mol. Interv.*, **7**, 157-167.
- 8) Wang, B., Matsuoka, S., Ballif, B.A., Zhang, D., Smogorzewska, A., Gygi, S.P., & Elledge, S.J. (2007) *Science*, **316**, 1194-1198.
- 9) Sobhian, B., Shao, G., Lilli, D.R., Culhane, A.C., Moreau, L. A., Xia, B., Livingston, D.M., & Greenberg, R.A. (2007) *Science*, **316**, 1198-1202.
- 10) Kim, H., Chen, J., & Yu, X. (2007) *Science*, **316**, 1202-1205.
- 11) Swanson, K.A., Kang, R.S., Stamenova, S.D., Hicke, L., & Radhakrishnan, I. (2003) *EMBO J.*, **22**, 4597-4606.

- 12) Sato, Y., Yoshikawa, A., Mimura, H., Yamashita, M., Yamagata, A., & Fukai, S. (2009) *EMBO J.*, **28**, 2461–2468.
- 13) Kanayama, A., Seth, R.B., Sun, L., Ea, C.K., Hong, M., Shaito, A., Chiu, Y.H., Deng, L., & Chen, Z.J. (2004) *Mol. Cell*, **15**, 535–548.
- 14) Alam, S.L., Sun, J., Payne, M., Welch, B.D., Blake, B.K., Davis, D.R., Meyer, H.H., Emr, S.D., & Sundquist, W.I. (2004) *EMBO J.*, **23**, 1411–1421.
- 15) Sato, Y., Yoshikawa, A., Yamashita, M., Yamagata, A., & Fukai, S. (2009) *EMBO J.*, **28**, 3903–3909.
- 16) Rahighi, S., Ikeda, F., Kawasaki, M., Akutsu, M., Suzuki, N., Kato, R., Kensche, T., Uejima, T., Bloor, S., Komander, D., Randow, F., Wakatsuki, S., & Dikic, I. (2009) *Cell*, **136**, 1098–1109.
- 17) Sato, Y., Fujita, H., Yoshikawa, A., Yamashita, M., Yamagata, A., Kaiser, S.E., Iwai, K., & Fukai, S. (2011) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **108**, 20520–20525.
- 18) Sato, Y., Yoshikawa, A., Yamagata, A., Mimura, H., Yamashita, M., Ookata, K., Nureki, O., Iwai, K., Komada, M., & Fukai, S. (2008) *Nature*, **455**, 358–362.
- 19) Cooper, E.M., Cutcliffe, C., Kristiansen, T.Z., Pandey, A., Pickart, C.M., & Cohen, R.E. (2009) *EMBO J.*, **28**, 621–631.
- 20) Wang, T., Yin, L., Cooper, E.M., Lai, M.Y., Dickey, S., Pickart, C.M., Fushman, D., Wilkinson, K.D., Cohen, R.E., & Wolberger, C. (2009) *J. Mol. Biol.*, **386**, 1011–1023.
- 21) Komander, D., Reyes-Turcu, F., Licchesi, J.D., Odenwaelder, P., Wilkinson, K.D., & Barford, D. (2009) *EMBO Rep.*, **10**, 466–473.
- 22) Bremm, A., Freund, S.M., & Komander, D. (2010) *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **17**, 939–947.

佐藤 裕介, 深井 周也

(東京大学放射光連携研究機構生命科学部門/
分子細胞生物学研究所)

The regulation of cell function by linkage-specific polyubiquitin binding

Yusuke Sato and Shuya Fukai (Life Science Division, Synchrotron Radiation Research Organization and Institute of Molecular and Cellular Biosciences, The University of Tokyo, General Research Bldg 211, 1-1-1 Yayoi, Bunkyo-ku, Tokyo 113-0032, Japan)

インフルエンザウイルス RNA ポリメラーゼのドメインの立体構造

1. はじめに

2009年にH1N1型のブタ由来新型インフルエンザがパンデミックを引き起こしたことは記憶に新しい。またH5N1型の高病原性トリインフルエンザのヒトへの感染が

懸念されるなど、インフルエンザは人類にとって現代でも重大な問題である。インフルエンザはインフルエンザウイルスが引き起こす病気で、このウイルスは8本のゲノムRNAを有する。ゲノムRNAのプロモーター領域の立体構造はNMRにより解明されている(図1A)。現在、抗ウイルス薬として、ウイルス粒子表面上に存在するノイラミニダーゼやM2タンパク質を標的とするタミフルやリレンザ、およびシンメトレルなどが広く用いられている。しかし、ノイラミニダーゼやM2タンパク質は変異が起きやすく、インフルエンザウイルスの中に既にタミフル耐性ウイルスが出現したことが報告されている。そのため、作用標的の異なる新しい抗インフルエンザ薬の発見・開発が望まれている。インフルエンザウイルスが有するRNA依存RNAポリメラーゼは、ウイルスのゲノムRNAの転写と複製の両方を行う。このRNAポリメラーゼはウイルス増殖の核となるタンパク質であるため、変異しづらい。そこで私達は、新しい標的分子として、インフルエンザウイルスのRNAポリメラーゼに着目した。このRNAポリメラーゼは3種類のサブユニットタンパク質(PA, PB1, PB2)から構成される。さらにNP(nucleoprotein)タンパク質がウイルスのゲノムRNAに結合している。このRNAポリメラーゼやNPの立体構造を知ることが、インフルエンザウイルスの転写や複製のメカニズムを理解し、これらのタンパク質を標的とした抗インフルエンザ薬を探索するのに有用であると考えられる。私達は病原性の強さと種間の伝播に関与するPB2サブユニットのC末端側の領域の立体構造を解明し、新規モチーフを有していることを見いだした(図2E)。本稿では、それ以外の領域の解明された立体構造も併せて紹介する。

2. インフルエンザのゲノムRNAに結合するNPの立体構造の解析

インフルエンザRNAポリメラーゼと核タンパク質であるNPは、ウイルスのゲノムRNAに結合し、互いに関連している。私達は、インフルエンザRNAポリメラーゼと同時進行でNPのタンパク質の発現を進めることにした。まず、理化学研究所の遺伝子バンクからインフルエンザRNAポリメラーゼPA, PB1, PB2とNPの四つの遺伝子を入手した。それぞれのタンパク質をコードする領域をPCRで作製し、大腸菌発現用のpETベクターに組み込み、BL21大腸菌にて組み換えタンパク質を発現させた。その頃、電子顕微鏡を用いてインフルエンザRNAポリメラーゼとNPの複合体の大まかな表面構造が報告された。私達