

2021 年度 大阪大学蛋白質研究所 拠点事業

## 研究成果報告書

(1) 事業名 (下記より該当事業名を選択し、ほかは削除して下さい。)

共同研究員

(2) 研究代表者

氏名：岩崎憲治

所属機関名・部局名・職名：筑波大学・生存ダイナミクス研究センター・教授

(3) 研究課題名 (申請時に記載したものと同一課題名を記入して下さい。)

滑膜肉腫における TLE1 の機能構造解析

(4) 蛋白質研究所受入担当教員

教員名：高木淳一教授

(研究室名：分子創製学 )

(4) 研究成果の概要 (公開)

滑膜肉腫は全軟部肉腫の 10% を占め、治療後も局所再発や転移に関して長期観察が必要な予後不良の希少がんである。Ifosfamide(IFM)や放射線治療を含む、ハイドーズの術前化学療法を伴う広範切除が標準治療である。しかし、これらの治療にしばしば耐性を持ち、再発に続いて肺転移が起きる。5 年生存率は、68~81%。初診時肺転移がある場合は 0~10% である。その 95% 以上の症例では、相互転座 t(X;18) の結果生成される融合遺伝子 SS18-SSX が同定されている。このドライバー遺伝子と考えられている SS18-SSX に加、Transducin-like enhancer of split 1 (TLE1) の研究も当研究室にて開始した。2 つの遺伝子はともに実際に滑膜肉腫の診断に使われている。SS18-SSX は、ほとんどの領域において天然変性状態であることが予測されている。TLE1 は染色体の空間構造の制御モデルが提唱されているなど、転写制御に重要な核内タンパク質でありながら、その詳しい全体構造や機能はほとんど未解明の状態である。この 2 種の遺伝子からの発現系の構築について蛋白質研究所の技術供与を受けるべく共同研究員として申請した。特に TLE1 は 594 残基からなるタンパク質であり、*in vitro* での相互作用実験からクライオ電子顕微鏡による構造解析のための発現系構築には、大腸菌等では困難が予測されるため、Expi293F の発現系構築において日本の第一人者である高木教授に Expi293F による発現の試みを依頼するとともに、現地にてその指導を受けた。筑波大学で構築した Expi293F 発現用 SS18-SSX 全長プラスミド、および TLE1 全長プラスミドを用いて蛋白質研究所にて行った実験では、TLE1 は、メジャーバンドとして高発現を示した。一方 SS18-SSX は、全長の翻訳産物が観察されず、分解していることが予測された。TLE1 については、ウェスタンブロッティングによって完全な全長の翻訳産物に加えて分解物の存在も示されたため、新たなる発現用プラスミドの設計を考案するに至った。