

平成 30 年 8 月 6 日

報道機関 各位

東北大学 大学院生命科学研究科
高エネルギー加速器研究機構

染色体の構造変換を司るタンパク質の構造を解明

【発表のポイント】

- ◆ ヒトのヒストンシャペロン HIRA (注 1) の立体構造を X 線結晶構造解析によって世界で初めて解明しました。
- ◆ HIRA の三量体形成が、ヒストンや HIRA のパートナータンパク質である CABIN1 との相互作用に必須であることを発見しました。
- ◆ HIRA は転写と修復に関わる多くのタンパク質を集積して機能させる構造基盤であるプラットフォームとしての役割を担うと予想されます。

【概要】

真核生物の染色体は、ヒストンと呼ばれるタンパク質に DNA が巻き付いた「ヌクレオソーム」という基本構造の繰り返しから構成されています (図 1)。真核生物の遺伝情報の継承、発現、修復にはヌクレオソームの構造変換を伴います。この構造変換には、ヒストン以外にヒストンシャペロンとよばれるタンパク質群が関わってきます。

東北大学大学院生命科学研究科の佐藤優花里助教(研究開始当時: 高エネルギー加速器研究機構 物質構造科学研究所 研究員)、高エネルギー加速器研究機構の千田俊哉教授、米国ペンシルベニア大学の M. Daniel Ricketts 博士と Ronen Marmorstein 教授、仏国キュリー研究所の Dominique Ray-Gallet 博士と Geneviève Almouzni 所長らの国際共同研究グループは、ヒストンシャペロンの一つである HIRA がヌクレオソームの形成を制御する仕組みの一部を明らかにしました。本研究では、X 線結晶構造解析(注 2)により HIRA の立体構造を解明し、またヒト細胞株を用いた実験により HIRA の三量体形成がヒストンや HIRA のパートナータンパク質 CABIN1 との相互作用に必須であることを証明しました。これらの発見は、癌などの疾患の発症機構の解明とその治療法の開発に繋がると期待されます。

本研究成果は、8 月 6 日 10 時(ロンドン時間、日本時間 8 月 6 日 18 時)に英国科学誌の「*Nature Communications*」(電子版)に掲載されました。

【詳細な説明】

1. 背景

ヌクレオソーム構造は、遺伝物質であるDNAをコンパクトに収納するための構造で、物理的、化学的に保護する為に役立ちます。しかしながら、この構造はDNAにタンパク質が直接相互作用することを邪魔するので、遺伝情報を複製したり、読み出したり(転写)、修復したりする、生命維持に必須の化学反応を阻害します。これらの化学反応を行う時には、ヌクレオソームの立体構造を大きく変えて、DNAとタンパク質が直接相互作用できるような状態を作り出すことが必要です。この構造変換は、ヒストン、ヒストンシャペロン、RNAポリメラーゼIIなどのタンパク質群の逐次的な相互作用により実現され、これらのタンパク質の機能異常は癌や胎児の発生段階での異常に直結します。ヒストンシャペロンHIRAは、ヒトの細胞内にあるヒストンH3のいくつかの種類(ヒストンH3バリエーションと呼ばれ、ヒトはH3.1、H3.2、H3.3など)、特に生殖系列の細胞や受精卵および胚に豊富に存在するH3.3のヌクレオソームへの取り込みに関わっています。分解されやすく沈殿を生じやすいHIRAは、取り扱いが大変難しいタンパク質で、生化学的解析は困難でした。そのため、ヒストンをヌクレオソームに取り込む仕組みは分子生物学における大きな未解決問題の一つでした。

2. 今回の成果

私たちはヒトHIRAのC末端側ドメインの精製に成功し、大型放射光施設SPring-8(兵庫県佐用郡)のビームラインBL41XUと高エネルギー加速器研究機構のフォトンファクトリー(茨城県つくば市)のビームラインBL-1A、BL-5A、BL-17A、AR-NE3AにおいてX線結晶構造解析の手法を用いてHIRAの立体構造を原子分解能で解明しました(図2)。HIRAの立体構造は、DNA複製時にできる複製フォークで幾つものタンパク質のプラットフォームとして機能するタンパク質Ctf4/AND-1と類似していることが判明しました。これは研究開始時全く予想していなかった発見でした。

また、SEC-MALS(注3)と超遠心分析(注4)という物理化学的な解析と、ヒト細胞株を用いた細胞生物学的実験を行い、HIRAは三量体を形成して別のヒストンシャペロンCABIN1に結合することを発見しました。さらに、HIRAの三量体形成は紫外線損傷を受けたDNA領域へのHIRAの集積と新生ヒストン取り込みに必須であることを見出しました。

DNAの情報を読み出す転写と、DNAを修復する分子過程では、DNA複製と同様に、DNAの二重らせんがほどかれて一本鎖になるDNAバブル構造が生じます。今回の発見から、HIRAは転写と修復に関わるタンパク質群のプラットフォームとして機能していることが強く予想されます。

HIRAは受精後または細胞を初期化するときに、染色体の転写活性化を通じて、細胞の発生と分化を制御する因子として近年注目されています。本研究成果は、基礎的な側面のみならず、医薬品開発ならびに遺伝子治療などの応用的側面におい

でも多大な貢献を果たすと期待されます。

本研究は、文部科学省科学研究費補助金(挑戦的萌芽研究)「タンパク質の立体構造解析を効率化する新手法の開発(研究代表者:佐藤優花里)」と日本医療研究開発機構(AMED)創薬等ライフサイエンス研究支援基盤事業(BINDS)「創薬等ライフサイエンス研究のための相関構造解析プラットフォームによる支援と高度化(研究開発代表者:千田俊哉)」及び創薬等支援技術基盤プラットフォーム(PDIS)(解析領域)解析等支援のためのタンパク質立体構造解析「総合技術基盤プラットフォームによる支援と高度化(研究代表者:千田俊哉)」の支援を受けて行われました。

【用語説明】

(注1) ヒストンシャペロン HIRA

ヒストンシャペロンは、ヌクレオソーム構造を形成または破壊する活性を示す酵母からヒトにまで高度に保存されているタンパク質である。ヒトの **Histone regulatory factor A: HIRA** は1017 アミノ酸残基から成る高分子量型ヒストンシャペロンで、ヒストンバリエント **H3.3** をヌクレオソームへ取り込む。生体内で **HIRA** はパートナータンパク質である **UBN1** 及び **CABIN1** と **H3.3** ヒストンシャペロン **HIRA** 複合体 (**H3.3 histone chaperone complex HIRA**) と呼ばれる巨大なタンパク質複合体を形成している。

(注 2) X 線結晶構造解析

結晶に X 線を照射して得られる複数の X 線像を解析してタンパク質を構成する原子の立体的な配置を決定する手法。タンパク質結晶に X 線を照射すると、結晶内の規則正しく並んだ分子によって回折した X 線像が得られる。タンパク質の結晶を作成するには、沈殿剤、塩、pH の異なるバッファーを用いてタンパク質が結晶化する条件を探索する必要がある。

(注 3) SEC-MALS

ゲルろ過クロマトグラフィー (**Size exclusion chromatography: SEC**) で分離されたタンパク質に、多角度光散乱検出器 (**Multi angle light scattering: MALS**) を用いて散乱角の異なる複数の光散乱強度を測定する。同時に示差屈折率計を用いてタンパク質の屈折率を測定する。光散乱強度と屈折率から溶液中のタンパク質の分子量を測定する手法。

(注 4) 超遠心分析

タンパク質溶液を高速で遠心し、タンパク質分子が溶媒の中を沈降する様子をリアルタイムで測定する。タンパク質の溶液中での性状を解析し、分子量を測定する手法。

【図】と説明

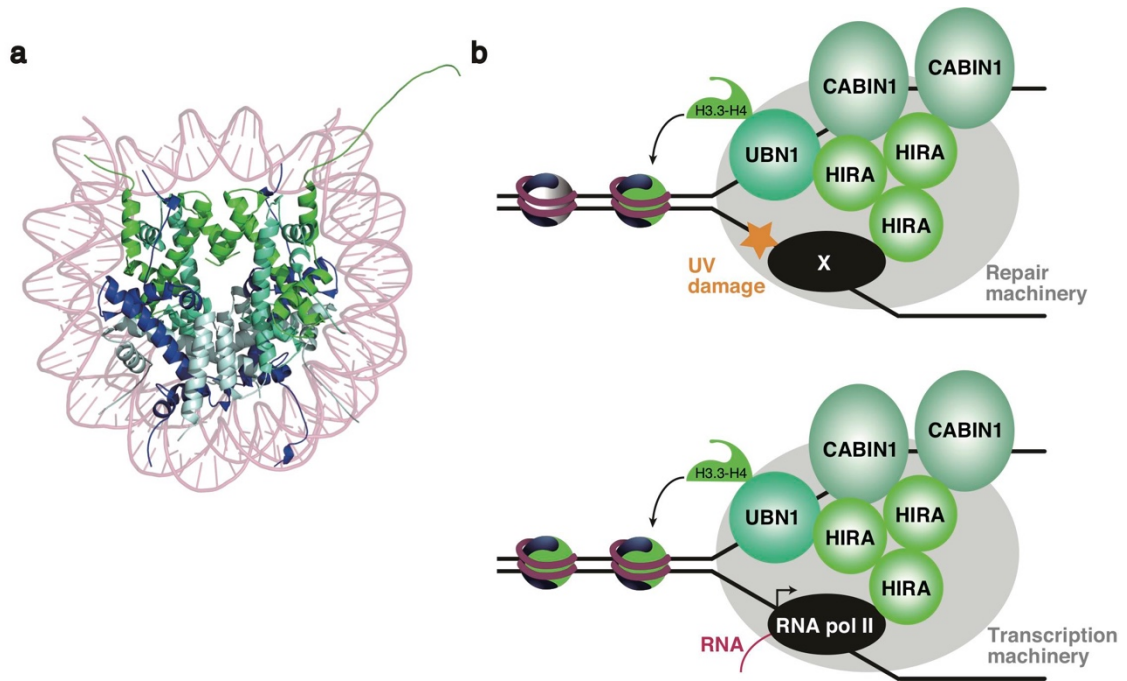


図 1. (a)ヌクレオソームの立体構造(Luger *et al.*, 1997 *Nature*)。ヌクレオソームはヒストン(H3-H4)₂ 四量体(緑と青緑)が DNA(紫)に結合し、続いて二つのヒストン H2A-H2B 二量体(青と水色)が取り込まれて形成される。(b)ヒストンシャペロン HIRA 複合体は修復(上図)及び転写(下図)の時に、H3 のバリエーションである H3.3 をヌクレオソームに取り込む。

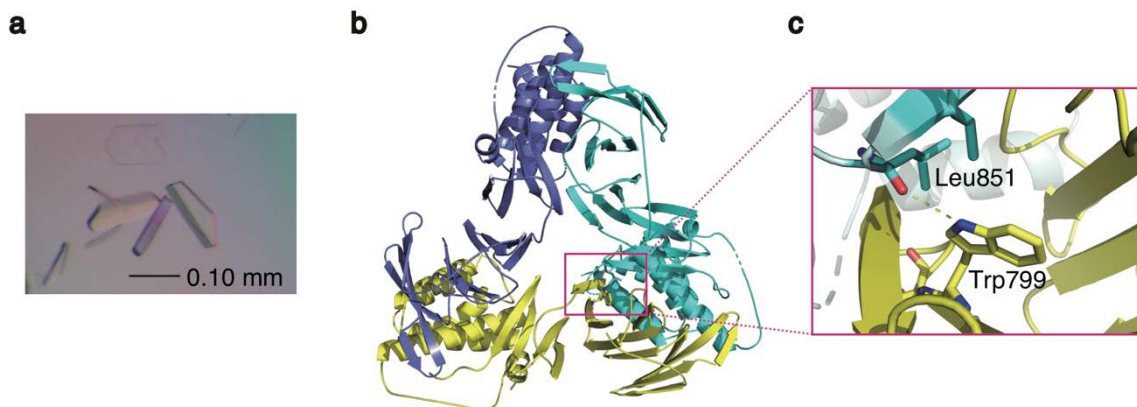


図 2. HIRA の結晶(a)と立体構造(b)。三量体を構成する HIRA 各サブユニットは青、黄、水色で示した。HIRA の三量体形成には 851 番目のロイシン(Leu851)と 799 番目のトリプトファン(Trp799)との相互作用が必須だった(c)。

【論文題目】

題目: Functional activity of the H3.3 histone chaperone complex HIRA requires trimerization of the HIRA subunit

著者: Dominique Ray-Gallet*, M. Daniel Ricketts*, Yukari Sato*, Kushol Gupta, Ekaterina Boyarchuk, Toshiya Senda, Ronen Marmorstein and Geneviève Almouzni#

(* 筆頭著者、# 連絡・責任著者)

雑誌: *Nature Communications*

DOI: 10.1038/s41467-018-05581-y

【問い合わせ先】

(研究に関すること)

東北大学大学院生命科学研究科

担当 佐藤 優花里 (さとう ゆかり)

電話番号: 022-217-6227

Eメール: yusato@ige.tohoku.ac.jp

高エネルギー加速器研究機構 物質構造科学研究所 構造生物学研究センター

担当 千田 俊哉 (せんだ としや)

電話番号: 029-879-6178

Eメール: toshiya.senda@kek.jp

(報道に関すること)

東北大学大学院生命科学研究科広報室

担当 高橋 さやか (たかはし さやか)

電話番号: 022-217-6193

Eメール: lifsci-pr@grp.tohoku.ac.jp

高エネルギー加速器研究機構 社会連携部 広報室

電話番号: 029-879-6047

Eメール: press@kek.jp