

## Tup1-Cyc8 コリプレッサー複合体のハイブリッド構造解析 Hybrid structural analysis of the Tup1-Cyc8 corepressor complex

松村浩由<sup>1</sup>、清水伸隆<sup>2</sup>、井上豪<sup>3</sup>

<sup>1</sup>立命館大学生命科学部生物工学科

<sup>2</sup>高エネルギー加速器研究機構物質構造科学研究所

<sup>3</sup>大阪大学大学院工学研究科応用化学専攻

Hiro Yoshi Matsumura<sup>1\*</sup>, Nobutaka Shimizu<sup>2</sup>, Tsuyoshi Inoue<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Department of Biotechnology, College of Life Sciences, Ritsumeikan University

<sup>2</sup>Institute of Materials Structure Science, High Energy Accelerator Research Organization (KEK)

<sup>3</sup>Department of Applied Chemistry, Graduate School of Engineering, Osaka University

### 1 はじめに

出芽酵母 *Saccharomyces cerevisiae* 由来 Tup1p-Cyc8p 複合体は、遺伝子の転写を抑制する転写抑制因子である。この複合体の標的となる遺伝子は、性分化、グルコース、酸素濃度、DNA 損傷などによって制御される遺伝子で、180 種類以上に及ぶ。

Tup1p は N 末端ドメイン (NTD)、非構造領域、WD40 repeat ドメインの 3 つのドメインを持ち NTD の領域が自己 4 量体化するために必須であることが知られている。私達は、2011G097 課題において Tup1p\_1-92 の X 線構造解析に成功しており<sup>1</sup>、Tup1p\_1-92 は 1 つの  $\alpha$  ヘリックス構造を持ち、逆平行の 4 ヘリックスバンドルを形成することが明らかとなった。一方で、Tup1p の 73-328 の領域は特定の立体構造をとらない領域とされ、また、329-713 の領域は WD40 repeat ドメインで DNA 結合タンパク質と結合する。この WD40 repeat ドメインについても、既に立体構造が明らかになっている。

Cyc8p の構造情報は不明であるが、46-398 のアミノ酸領域は TPR (tetratricopeptide repeat) 配列が 10 回繰り返されたものからなっており、その 1~3 番目の領域に相当する TPR1-3 は Tup1p の NTD との相互作用とコリプレッサーとしての機能に最低限必要な領域であることが分かっている。機能面でその重要性が明らかになりつつある Cyc8 であるが、現在のところ、Cyc8p については、その立体構造は不明である。そこで、本研究では、X 線溶液散乱法によって、TPR1-3 の構造に関する知見を得ることを目的とした。

### 2 実験

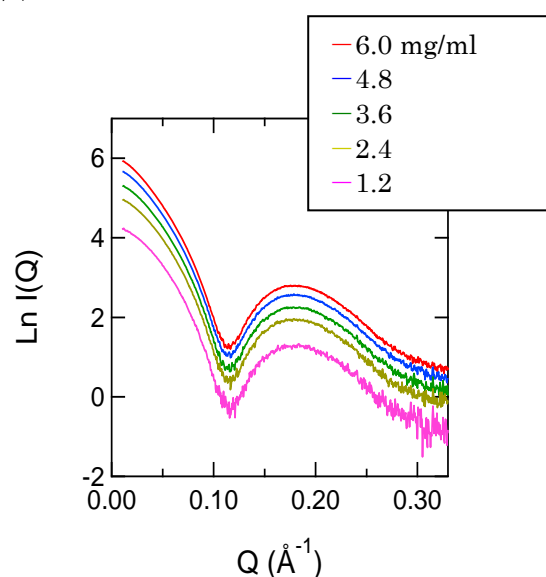
*Saccharomyces cerevisiae* 由来 Cyc8p TPR1-3 を大腸菌発現系で発現させ、アフィニティークロマトグラフィーとゲル濾過クロマトグラフィーで精製した。50 mM Tris-HCl (pH 8.0), 500 mM NaCl, 0.01% (w/v) DDM の緩衝液中に溶解した TPR1-3 の 6.0 mg mL<sup>-1</sup>

から 1.2 mg mL<sup>-1</sup> まで濃度バリエーションを作成し、SAXS 測定を BL-10C で行った。標準資料としては、オボアルブミンを用いた。波長 1.488 の X 線を用い、検出器は PILATUS3 300K-W (DECTRIS)、20°C で測定した。

### 3 結果および考察

図 1 に *Saccharomyces cerevisiae* 由来 Cyc8p TPR1-3 の全散乱曲線を示す。このデータから、濃度変化による散乱曲線の変化はあまり見られないことが確認できた。また、散乱曲線は谷が  $Q=0.12\text{\AA}^{-1}$ 、山が  $Q=0.19\text{\AA}^{-1}$  付近に見られる非常に特徴的な形状を示しており、これは TPR1-3 の特徴的な構造を示していると予想された。Guinier プロットからそれぞれの濃度  $c$  での  $Rg^2$  と原点散乱強度を求めたところ、直線近似によるゼロ濃度外挿から  $Rg = 33.9 \pm 0.5 \text{\AA}$  と見積もられた。

図 1



#### 4 まとめ

本研究によって TPR1-3 の全散乱曲線を得ることができ、TPR1-3 が非常に特徴的な立体構造を示す可能性が示された。

#### 参考文献

[1] Matsumura, et al., *J. Biol. Chem.*, 287, 26528-26538 (2012).

\* h-matsu@fc.ritsumei.ac.jp