

ヒストンシャペロン TAF-I β -ヒストン H3-H4 複合体の結晶構造解析 Structural analysis of histone chaperone TAF-I β complexed with histone H3-H4.

赤井祐介¹, 千田俊哉^{1,*}¹ 高エネルギー加速器研究機構, 〒305-0801 つくば市大穂 1-1Yusuke Akai¹ and Toshiya Senda^{1,*}¹High Energy Accelerator Research Organization, 1-1 Oho, Tsukuba, 305-0801, Japan

1 はじめに

真核生物のゲノム DNA は、ヒストン複合体に巻き付けてヌクレオソーム構造を形成している。ヒストンは細胞内外のシグナルに応答して、アセチル化などの翻訳後修飾を受け、この翻訳後修飾がエピジェネティック情報として細胞分裂を経て親細胞から娘細胞へ継承される必要がある。エピジェネティック情報を持つヒストン分子の伝達様式には、ヒストン H3-H4 二量体が運搬される半保存的な分配、ヒストン(H3-H4)₂ 四量体が運搬される保存的な分配があると考えられている。我々は、ヌクレオソームの分解・再構築を制御するヒストンシャペロン及びその複合体の結晶構造解析に基づいて、親ヌクレオソームのヒストン(H3-H4)₂ 四量体が 2 つのヒストン H3-H4 二量体に分割され、2 本の娘鎖 DNA に等分配されることで、エピジェネティック情報を娘細胞へ均等に分配する半保存的複製モデルを提唱してきた[1]。その一方で、ヒストン(H3-H4)₂ 四量体として運搬される保存的複製の実験結果も示されており、ヒストン H3-H4 上のエピジェネティック情報伝達機構は未だ解明されていない。そこで我々は、ヒストン(H3-H4)₂ 四量体運搬によるエピジェネティック情報伝達の分子機構を明らかにするため、ヒストンシャペロン TAF-I β とヒストン(H3-H4)₂ 四量体の特異的な相互作用に着目し、ヒストンシャペロン TAF-I β -ヒストン(H3-H4)₂ 複合体の X 線結晶構造解析を行っている。

2 実験

TAF-I β とヒストン(H3-H4)₂ 四量体は、大腸菌内で大量発現させた後、イオン交換クロマトグラフィーやゲル濾過クロマトグラフィーを用いて精製した[1,2]。精製した TAF-I β とヒストン(H3-H4)₂ 四量体をモル比 1:1 で混合することで複合体試料を調製し、ハンギングドロップ蒸気拡散法にて結晶化を行った。2.0 M 硫酸アンモニウムの結晶化条件にて約 200 ミクロンの結晶が得られた。得られた結晶を用いて、クライオプロテクタントの選定やソーキング時間・温度の最適化などを系統的に行った。

3 結果および考察

30% グリセロールを含むクライオプロテクタント溶液に約 1 分間ソーキングし、PF-AR NE3A にて回

折実験を行った。その結果、約 4.8 Å 分解能の X 線回折データを収集した(表 1)。回折データは、XDS 及び XSCALE のプログラムを用いてデータ処理を行った。結晶の晶系は六方晶に属し、 $a = b = 109.85$ Å, $c = 277.96$ Å, 空間群 $P6_122$ の結晶であることが明らかになった。構造既知である TAF-I β とヒストン(H3-H4)₂ 四量体を初期モデルとして分子置換法を行ったが、有意な解を得る事はできなかった。現在、TAF-I β とヒストン(H3-H4)₂ 四量体の保存性の低い領域を除いたコンストラクトを作製して、複合体の物理科学的性質を検証しながら、種々の複合体の結晶化を行っている。

表 1. X 線回折強度データの統計値

Space group	$P6_122$
Cell dimensions	
a, b, c (Å)	109.85, 109.85, 277.96
α, β, γ (°)	90, 90, 120
Resolution (Å)	15.0-4.8 (5.08-4.80)
R_{merge}	0.113 (0.470)
$I/\sigma(I)$	17.11 (6.60)
Completeness (%)	98.0 (100.0)
Software	XDS
Beamline	PF-AR NE3A

括弧内は最外殻の分解能に対する値である。

4 まとめ

TAF-I β -(H3-H4)₂ 複合体の結晶化、及び X 線回折データの収集に成功したが、未だ構造決定には至っていない。現在、蛋白質のアミノ酸配列の最適化や結晶化条件を再検討することで結晶の品質を改善させると共に、高分解能のデータの収集を行っている。

謝辞

本研究は PF のスタッフの方々にサポートして頂きました。ここに感謝致します。

参考文献

- [1] R. Natsume *et al.*, *Nature* **446**, 338-341 (2007).
[2] S. Muto *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **104**, 285-290 (2007).

* toshiya.senda@kek.jp