

クロマチンダイナミクスにおけるヒストンバリエントの機能解析 Functional and structural analyses of histone variants in nucleosomes

胡桃坂仁志^{1,*}, 堀越直樹¹

¹早稲田大学大学院・先進理工学研究科,

〒162-8480 東京都新宿区若松町 2-2 早稲田大学先端生命医科学センター

1 はじめに

遺伝情報が正確に伝達されるためには、DNA の転写、複製、修復などのさまざまな DNA 代謝が正常に行われ、染色体が娘細胞に均等に分配される必要がある。染色体の最小単位は、2 分子の H2A、H2B、H3、H4 から成るヒストン 8 量体に、DNA が 1.65 回転巻き付いたヌクレオソームと呼ばれる円盤状の構造体である。クロマチンでは、ヌクレオソームが数珠状につながり、高次に折り畳まれることで DNA が折りたたまれている。近年、クロマチン構造は単に DNA を核内に収納するための静的な役割だけでなく、動的に構造変化し、DNA 代謝を制御すると考えられている。クロマチンダイナミクスを規定する因子として、ヒストン H2A、H2B、H3 と高い相同性を有するヒストンバリエントの存在が重要視されている。

ヒストンバリエントは、特異的にクロマチンに取り込まれることで、その領域のクロマチン構造を大きく変化させることが示唆されている。我々は、精巢特異的な H3 バリエント H3T を含むヌクレオソームの結晶構造解析に成功し、H3T の取り込みによってヌクレオソームが非常に不安定になることを示した^[1]。さらに、セントロメア特異的な H3 バリエントである CENP-A を含むヌクレオソームの結晶構造解析に成功した。解析の結果、ヌクレオソーム中の DNA の運動性が非常に高いことが明らかになり、セントロメア形成に重要な役割を果たしていることを示した^[2]。このように、ヒストンバリエントの取り込みと、クロマチン構造変化は密接に関わっているにも関わらず、数多く存在するヒストンバリエントの機能は未だ明らかになっていない。そこで本研究では、ヒストンバリエントがクロマチン構造に及ぼす変化を X 線結晶構造解析により明らかにすることを目的としている。

2 実験

本実験では、まず転写開始点に多く局在し、転写制御に関わると考えられているヒストンバリエント H2A.Z を含むヌクレオソーム、新規のヒストンバリエント H3FAP6、H3.7 を含むヌクレオソームを高純度に精製し、結晶化を行った。得られた単結晶を用いて、PF BL-1A および BL-17A にて X 線回折実験を行った。得られたデータセットを HKL2000 で処

理した後、Phaser プログラムによって既知のヌクレオソームの構造情報(pdb code: 3AFA)を用いて分子置換を行った。得られた構造情報の精密化を、PHENIX プログラムによって行った。

3 結果および考察

まず、H2A と H2A.Z を 1 分子ずつ含むヌクレオソームの単結晶を用いて native データセットを収集した。HKL2000 で処理した結果、 $P2_12_1$ の結晶系で 2.95 Å で処理できることが分かった。構造解析の結果、通常のヌクレオソームと構造が大きく異なる領域が存在することが明らかとなった。現在、この領域のヌクレオソームの安定性への影響を、生化学的および細胞生物学的手法により解析している。同様にして、新規ヒストンバリエント H3FAP6 を含むヌクレオソーム、および H3.7 を含むヌクレオソームの単結晶を用いて、構造解析可能なデータセットを得ることに成功している。

4 まとめ

ヒストンバリエントがクロマチン構造変化に及ぼす影響は、エピジェネティクスのメカニズムの解明に重要であるにも関わらず、その詳細な機構は未だ明らかとなっていない。本研究では、特異的なヒストンバリエントの取り込みによって、クロマチンがどのような立体構造変化を受け、その結果、転写などの DNA 代謝がどのように制御されるかを原子レベルで明らかにすることを目的として研究を行っている。今後、機能未知のヒストンバリエントの構造についてさらなる解析を行うことで、クロマチンダイナミクスの分子機構解明につながると考えられる。

謝辞

X 線解析実験を行うにあたり、ご協力くださった PF のスタッフの方々に深くお礼申し上げます。

参考文献

- [1] H. Tachiwana *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **107**, 10454-10459 (2010).
- [2] H. Tachiwana *et al.*, *Nature* **476**, 232-235 (2011).

* kurumizaka@waseda.jp