

2002U001

CCG1 interacting factor A (CIA)の立体構造解析

実験組織: Balasundaram Padmanabhan¹、片岡和宏¹、安達成彦^{1,2}、梅原崇史¹、堀越正美^{1,2}
¹ 科技団・ERATO・堀越プロジェクト、² 東大・分生研・発生分化構造

実験期間: BL6A : 2002年5月30日 - 5月31日
BL18B : 2002年4月16日 - 4月17日
2002年6月20日 - 6月21日

実験ステーション: BL6A, BL18B

研究目的: 真核生物の遺伝情報を担う DNA は、ヒストン蛋白質に巻き付き、高度に凝集したヌクレオソーム構造を形成している。そのため、遺伝情報の発現にはヌクレオソーム構造を変換する因子が重要な役割を果たす。当研究室では、裸の DNA からの遺伝子発現制御の要となる TFIIID のサブユニット CCG1 の相互作用因子として、CCG1 interacting factor A (CIA)を単離し、CIA がヒストンと相互作用することから、ヌクレオソーム構造を変換するヌクレオソームアッセムブリー因子であることを明らかにしてきた [Munakata *et al.* (2000) *Genes Cells* **5**, 221-233]。

CIA はヌクレオソームアッセムブリー因子の中でも、進化上最も保存された因子である。また、ヌクレオソーム構造中の DNA の結び目に相互作用することから、ヌクレオソーム構造変換において中心的な役割を演じる因子と考えられる。今までのところ、真核生物の遺伝子発現制御の要となるヌクレオソーム構造変換のメカニズムは、その重要性にもかかわらず全く不明である。ヌクレオソームの立体構造が 1997 年に解析されている一方で、ヌクレオソームアッセムブリー因子の立体構造は解明されておらず、ヌクレオソーム構造変換のメカニズムを解明する上でのミッシングピースとなっている。従って、ヌクレオソーム構造変換の要となる CIA の立体構造解析は急務であると考えられた。

研究成果: CIA の精製・結晶化は大変困難であった。しかし我々は、ヒト・出芽酵母の CIA の全長および部分について精製と結晶化を同時進行で試みた結果、出芽酵母 CIA について、厚さ 0.03-0.04 mm の結晶を得ることに成功した。

さらに、出芽酵母 CIA の native protein について放射光を照射した結果、2.95Å の回折像を得ることに成功した。回折像を解析した結果、 $P2_12_12_1$, $a = 106.70$ (3), $b = 46.92$ (1), $c = 40.60$ (2) Å であることが判明した [Padmanabhan *et al.* (2002) *Acta. Crystallogr. D Biol. Crystallogr.* **58**, 1876-1878]。

CIA は、相同因子の立体構造が解析されていない全くの新規因子であるために、分子置換法による位相決定を行うことができず、重原子置換法による回折像を得て、位相決定を行うことが必須である。高エネルギー加速器研究機構の放射光施設を用いることによって、小さな結晶であったにもかかわらず native protein の回折像を得られたことから、今後、重原子置換法による結晶解析においても決定的な回折像を得られることが期待される。