

タンパク質結晶構造解析ユーザーグループ

ヒストンシャペロン CIA/ASF1-CCG1 ブロモドメイン複合体の構造と機能

○赤井祐介^{1,4}、安達成彦²、林陽平³、栄徳勝光³、佐野徳彦³、夏目亮²、工藤紀雄¹、田之倉優¹、堀越正美³、千田俊哉⁴

1 東大院・農・応生化、2 JBIC、3 東大・分生研、4 AIST・BIRC

真核生物のゲノム DNA は、ヒストンに DNA が巻き付いたヌクレオソームを形成することで、直径わずか $1\mu\text{m}$ の核内に収納されている。ヌクレオソームは DNA 上で起こる転写・複製・修復・組換えなどの反応に抑制的に作用するため、DNA を収納しつつ反応を進行させるにはヌクレオソームの形成と破壊が必須である。これまでに、ヒストンのアセチル化などの翻訳後修飾が目印となって特定の領域のヌクレオソームの構造変換が起こることが明らかにされている。しかしながら、ヒストンの化学修飾からヌクレオソームの構造変換に至る反応素過程については未だ解明されておらず、これらの反応に関与する因子の複合体の立体構造解析が待望されていた。

今回我々は、アセチル化ヒストンを特異的に認識する転写基本因子 TFIID の最大サブユニット CCG1 の高保存領域であるブロモドメイン (DBD(CCG1)) と、ヌクレオソーム構造の形成・解離を制御するヒストンシャペロン CIA との機能的相互作用に着目し、KEK フォトンファクトリーのビームライン NW12A、BL-5A を利用して、CIA-DBD(CCG1) 複合体の立体構造を 3.3\AA 分解能で決定した。結晶構造解析の結果、1 分子の DBD(CCG1) に対して 2 分子の CIA が相互作用していることを見出した。そこで、溶液中における CIA-DBD(CCG1) 複合体の化学量論比を明らかにするため、GST プルダウンアッセイ、等温滴定カロリメトリー、分析超遠心による相互作用解析を行った。その結果、DBD(CCG1) に対する CIA の高親和性サイトを決定し、溶液中において濃度依存的に 1:1 および 2:1 の CIA-DBD(CCG1) 複合体を形成することを明らかにした。さらに、我々が構造決定した CIA-ヒストン H3-H4 複合体との構造比較を行ったところ、DBD(CCG1) とヒストン H3-H4 が CIA に対して競合的に相互作用することが予想されたことから、CIA/ASF1(155)、DBD(CCG1)、ヒストン H3-H4 を用いた競合的相互作用実験を行った。その結果、DBD(CCG1) とヒストン H3-H4 が CIA に対して競合的に相互作用し、CIA が DBD(CCG1) からヒストン H3-H4 へと転移することを明らかにした。また、出芽酵母を用いた遺伝学的解析およびクロマチン免疫沈降解析では、CIA-DBD(CCG1) 複合体が *ACT1* 遺伝子プロモーター領域に局在すること、CIA-DBD(CCG1) 間の相互作用が細胞内において機能的であることを明らかにした。以上の結果から、「DBD(CCG1) との相互作用を介してプロモーター上にリクルートされた CIA が、ヒストン H3-H4 と相互作用し、ヌクレオソーム構造を破壊することで遺伝子発現が制御される」という分子機構モデルを提唱する。