

## ヒトコンデンシンヒンジドメインの結晶構造解析

河原一樹<sup>1</sup>、中村昇太<sup>2</sup>、勝康浩<sup>1</sup>、元岡大祐<sup>1</sup>、細川祐岐<sup>1</sup>、佐伯直哉<sup>3</sup>、  
内山進<sup>3</sup>、小林祐次<sup>4</sup>、福井希一<sup>3</sup>、大久保忠恭<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup> 阪大院・薬、<sup>2</sup> 阪大・微研、<sup>3</sup> 阪大院・工、<sup>4</sup> 大阪薬科大)

Structural maintenance of chromosomes (SMC) 蛋白質は、細菌からヒトに至る生物に広く存在し、真核生物においてはコンデンシンやコヒーシンと呼ばれる環状の蛋白質複合体中のコアサブユニットとして染色体の高次構造と機能の制御に関わっている。特に、2 種類の SMC タンパク質として SMC2(CAP-E)と SMC4(CAP-C)、および 3 種類の非 SMC タンパク質(CAP-D2, G, H)から構成されるコンデンシンは、染色体凝縮の過程で中心的な役割を果たすことが知られているが、個々の構成タンパク質の構造や機能については、未だ解明されていない。

我々は、ヒトコンデンシン中で、複合体形成に必須であり、かつ DNA との相互作用を担うドメインとして知られる SMC 蛋白質 hSMC2(hCAP-E)のヒンジドメイン(hCAP-E-h)に着目し、その立体構造解析から機能を探ることを試みてきた。ヒンジドメインは単体では不安定である為、発現の際には両末端を束ね溶解性や安定性を向上させると考えられるコイルドコイル領域を含んだコンストラクトを設計した。数種の設計産物中から、安定な発現系が得られ、その精製系を確立した。現時点で、分子置換法を適用する為の妥当なモデル構造が報告されていない為、構造決定法として、SeMet 誘導体結晶を作成し、多波長異常散乱法を試みた。しかしながら、野生型蛋白質に存在する 3 個の Met を SeMet に置換した誘導体結晶からは有意な異常散乱効果を検出することが出来なかった。そこで、二次構造予測から分子内部のヘリックス領域に存在すると思われる Leu を選択し、それらを SeMet に変異させた hCAP-E-h 誘導体を作製し結晶化を行った。作製した 5 種の誘導体の内、配列中の 68 番目の Leu を SeMet に変異させた誘導体から得られた結晶は、これまでで最も良質な回折パターンを与えた。回折データ収集の際、放射光による結晶の損傷が顕著であったが、単波長異常散乱法を適用することにより、最終的に 2.4 Å の分解能で初期構造を決定することに成功した。

本報では、hCAP-E-h の構造決定に至る方法論と構造解析、そして得られた構造情報を基にヒトコンデンシンヒンジドメインの機能について報告する。