

ヒト由来 SMC 蛋白質ヒンジドメイン複合体の立体構造解析 Crystal Structure of a human SMC hinge domain complex

元岡大祐¹、細川祐岐¹、河原一樹²、中村昇太³、内山進⁴、
小林祐次⁵、福井希一⁴、大久保忠恭¹

1 阪大院・薬、2 奈女大、3 阪大・微研、4 阪大院・工、5 大阪薬大

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、DNA の複製と転写の制御に深く関わっている。SMC 蛋白質は、N 末端およびC末端のヘッドドメインと中央のヒンジドメインがコイルドコイル配列で連結されたドメイン配置をしており、ヒンジドメインで折り畳まれることで全長約 50nm の棒状の構造を採る。細菌では 1 種類の SMC 蛋白質がホモダイマーとして機能するのに対し、真核生物では少なくとも 6 種類の SMC 蛋白質が存在し、各々が特異的な組み合わせで会合し 3 種類のヘテロダイマーを形成することが明らかになっている。

ヘテロダイマー形成の選択性はヒンジドメインにより制御されると考えられているが、その詳細な相互作用機構については未だ解明されていない。今回、我々は、ヒトの細胞分裂期の染色体の凝縮と形成に必須であるコンデンシン複合体に着目し(図1)、その主要構成成分である hSMC2/hSMC4 ヘテロダイマーの会合機構の解明を目的として、各ヒンジドメインとその両末端約 30 残基のコイルドコイル領域を含めたコンデンシンヒンジドメイン複合体(hSMC2-h-scc/hSMC4-h-scc)の X 線結晶構造解析を行った。

溶液中において、hSMC2-h-scc が単独で安定に存在するのに対し、hSMC4-h-scc は非常に不安定であることから、共発現ベクターを用いて hSMC2-h-scc/hSMC4-h-scc の大量発現・精製系を構築し、結晶化を行った。得られた複合体結晶を用いて、PF BL-17A で回折実験を実施し、最高分解能 2.1 Å の回折データを収集した。構造決定法として、我々がこれまでに明らかにした hSMC2-h-scc の結晶構造をもとに、分子置換法を用いた。また、hSMC4-h-scc については、自動および手動によりモデル構築し、最終的に 2.1 Å の分解能、 R 値 18.0%、 R_{free} 値 23.7% で構造決定することに成功した。

本発表では得られた hSMC2-h-scc/hSMC4-h-scc の立体構造情報とアミノ酸残基変異実験の結果を併せ、ヒト SMC 蛋白質ヒンジドメインのヘテロダイマー選択機構について議論する。

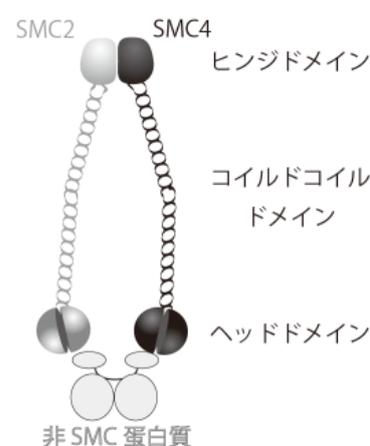


図1. コンデンシン全体像