

平成 27 年度 全体研究開発報告書

1. 補助事業名：創薬等ライフサイエンス研究支援基盤事業
(創薬等支援技術基盤プラットフォーム事業)
2. 補助事業課題名：構造解析用核内タンパク質等の生産と評価
(ヒストン、ヌクレオソーム、クロマチンの生産と評価)
3. 研究開発代表者：学校法人早稲田大学 教授 胡桃坂仁志
4. 研究開発の成果

真核生物のクロマチンの構造基盤である、ヒストンタンパク質やヌクレオソームをターゲットとした核内タンパク質の構造および機能を明らかにすることを目的とし、研究開発代表者のグループが独自に開発したヒストンタンパク質の精製技術やヌクレオソームの再構成技術を基に、調製したヒストン H2A、H2B、H3、H4、ヒストン複合体、およびヌクレオソームを研究機関に供給した。支援の結果、得られた成果が学術雑誌に原著論文として掲載された以下の 2 つの研究について報告する。

- ・がん細胞で発現異常がみられるヒストンバリエント H2A.Z を含むヌクレオソームの溶液構造解析

がん細胞において発現異常が報告されているヒストンバリエント H2A.Z がヌクレオソーム構造に及ぼす影響を解析するために、5 mg 程度のヒストン H2A.Z を含むヌクレオソームを調製し、研究機関に提供した。ヌクレオソームにおける DNA とヒストンの構造を、溶液中で個別に解析するために、コントラスト変調法を用いた中性子小角散乱解析を行った。その結果、主要型である H2A を含むヌクレオソームと比較して、H2A.Z バリエントを含むヌクレオソームでは DNA 構造にはあまり変化が見られないが、ヒストン複合体の構造が異なることが明らかになった (Sugiyama et al., *Biochem. Biophys. Rep.*, 4, 28-32, 2015)。

- ・メチル化 DNA を含むヌクレオソームの生化学的解析および構造解析

がん細胞において、ペリセントロメア領域のサテライト配列のメチル化レベルが変化することが報告されている。そこで、DNA のメチル化がヌクレオソーム構造に及ぼす影響を解析するために、メチル化されたセントロメア領域のサテライト配列を用いてヌクレオソームを再構成し、生化学的解析および X 線結晶構造解析を行った。その結果、DNA のメチル化によって、ヌクレオソームの DNA 上での形成ポジションが変化することが明らかになった。さらに、DNA のメチル化によって、ヌクレオソームにおける DNA 末端の運動性が向上することが明らかになった (Osakabe et al., *Open Biology*, 5, 10, 2015)。

並行して、生体内のクロマチンを模倣した、特定の位置にヒストンバリエント、ヒストン翻訳後修飾、ヒストン変異、ヌクレオソーム・フリー領域を導入したヌクレオソーム・アレイ、およびヌクレオソームにリンカーヒストン H1 が結合したクロマトソームの調製技術の確立、さらにそれらの構造解析と性状解析を行った。その結果、特定の位置にヒストンバリエント、ヒストン翻訳後修飾、ヒストン変異、ヌクレオソーム・フリー領域を導入したヌクレオソーム・アレイ、およびヌクレオソームにリンカーヒストン H1 が結合したクロマトソームを高純度かつ高効率に調製する系を確立することに成功した。さらに、ヌクレオソーム・アレイおよびクロマトソームの結晶化にも成功し、X 線結晶構造解析や溶液構造解析に供することができるサンプル調製が可能であることが示された。