

天然変性タンパク質の動的構造と機能制御機構の解明

Dynamics of intrinsically disordered proteins and their functional roles

西村 善文 (NISIMURA YOSHIFUMI)

横浜市立大学・大学院生命ナノシステム科学研究科・教授



研究の概要

本研究においては天然変性タンパク質の動的構造と機能制御機構の解明を行う。真核生物の特に核内タンパク質を標的に、単独では天然変性状態部位を持ち複合体形成に伴って全体としてフォールディングするクロマチン関連因子、ヌクレオソーム、転写活性化因子、転写抑制因子、基本転写因子を対象に、NMRを用いて、単独の時の動的構造、中間体の動的構造、特異的複合体の動的構造を解析し、天然変性タンパク質の認識機構の普遍性を解明する。

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：生物科学・生物物理学

キーワード：NMR、転写因子、クロマチン、動的構造、天然変性状態

1. 研究開始当初の背景

タンパク質の構造をNMRで解析すると、真核生物の核内タンパク質においては必ずしも結晶中の構造が水溶液中の構造を反映していない場合が多いことが判ってきた。特に天然変性タンパク質では水溶液中では単独では全くランダムで相手と出会うことにより構造を形成する。

2. 研究の目的

クロマチン関連因子、ヌクレオソーム、染色体末端構造のテロメア関連因子、神経特異的転写抑制因子、ストレス応答転写活性化因子、基本転写因子などの複合体形成における天然変性状態の役割を解明する。

3. 研究の方法

クロマチン関連因子や転写関連因子における認識様式をNMR法を用いた動的構造解析により解明する。

4. これまでの成果

世界で初めて3'突出末端を含んだテロメアDNAと天然変性状態であるテロメアタンパク質TRF2の塩基性ドメインとの複合体をNMRにより解析した。

組換えヒストンタンパク質(H2AH2B)2量体の安定性をMSで評価しアルギニン残基のシトルリン化により安定性が増す事を初めて明らかにした。

組換えヒストンタンパク質(H2AH2B)2量体中のH2Aの2次構造をNMRにより初めて同定した。またH2AH2Bと3種類のヒストンシャペロンNAP1、NAP2、FACTのSPT16の天然変性状態の各酸性ドメインとの結合を初めてNMRで解析しH2A上で各酸性ドメインの結合部位を同定した。

ヘテロクロマチン形成因子HP1 α のクロモドメインの4個のセリンリン酸化体の構造を初めてNMRで決定した。

神経選択的転写抑制因子REST/NRSFの

mSin3の結合阻害剤から神経疼痛モデルマウスに効果がある化合物を初めて同定した。

TFIIE α 酸性ドメインとTFIIHのp62のPHドメインとの複合体構造を始めて決定した。

TFIIE α β 全長の主鎖シグナルの帰属と動的構造解を解析し各構造ドメインが長いフレキシブルリンカーで結ばれ、全長におけるTFIIE α のC末領域の構造をNMRで決定した。

5. 今後の計画

ヒストンH2AH2BおよびH3H4の各複合体とH2AH2BH3H4の各2量体からなるヒストンオクタマー、さらにはDNAとの複合体のヌクレオソームコアについて、MSとNMRで構造解析を行っていく。

ヒストンH2AH2Bとヒストンシャペロンタンパク質との複合体構造をNMRで解析する。

基本転写因子のTFIIEとTFIIHの複合体で動的構造を解析する。

TRF2の天然変性状態の塩基性ドメインとテロメアDNAとの複合体について動的構造解析を行う。

神経特異的な転写抑制因子RESTのN末の転写抑制ドメインとSin3複合体の動的構造をNMRで解析する

クロマチン関連因子のChp1、Hp1 α 、Swi6、CHD7、Tip60のクロモドメインの動的構造と機能多様性を解析する。

6. これまでの発表論文等

1. Horikoshi,N., Tachiwana,H., Saito, K., Osakabe, A., Sato, M., Yamada, M., Akashi, S., Nishimura, Y., Kagawa, W., and Kurumizaka, H. ,Structural and biochemical analyses of the human PAD4 variant encoded

by a functional haplotype gene. *Acta Crystallogr. B* 67, 112-118 (2011).

2. Shimoyama,S., Nagadoi,A., Tachiwana,H., Yamada,M., Sato,M., Kurumizaka,H., Nishimura,Y., and Akashi,S. Deimination stabilizes histone H2A/H2B dimers as revealed by electrospray ionization mass spectrometry. *J. Mass. Spectrom.* 45, 900-908 (2010).
3. Yamane, T., Okamura, H., Nishimura, Y., Kidera, A., Ikeguchi, M., Side-chain conformational changes of transcription factor PhoB upon DNA binding: a population-shift mechanism. *J Am Chem Soc.* 132, 12653-12659 (2010).
4. Shimojo, H., Sano, N., Moriwaki, Y., Okuda, M., Horikoshi, M., and Nishimura, Y., Novel Structural and Functional Mode of a Knot Essential for RNA Binding Activity of the Esa1 Presumed Chromodomain. *J. Mol. Biol.* 378, 987-1001 (2008).
5. Okuda, M., Tanaka, A., Satoh, M., Mizuta, S., Takazawa, M., Ohkuma, Y., and Nishimura, Y., Structural insight into the TFIIE/TFIIH interaction: TFIIE and p53 share the binding region on TFIIH. *EMBO J.* 27, 1161-1171 (2008).
6. Akashi, S., Nagakura, S., Yamamoto, S., Okuda, M., Ohkuma, Y., Nishimura Y. Structural characterization of human general transcription factor TFIIF in solution. *Protein Sci.* 17, 389-400 (2008).

ホームページ等

http://www.tsurumi.yokohama-cu.ac.jp/s_tbiol/index.html

<http://www.tsurumi.yokohama-cu.ac.jp/ynmr/>

<http://www.tsurumi.yokohama-cu.ac.jp/egc/>