

## ヒストンテイルの動的構造変化を解明

横浜市立大学大学院生命医科学研究科の津中康央特任助教と西村善文特任教授（広島大学大学院統合生命科学研究科長兼任）らは、NMR という特殊な分光器を用いて、ヒストンシャペロン FACT によって誘導される、クロマチンの基本構造であるヌクレオソーム中のヒストンテイルの動的な構造変化を初めて解明しました。今後、この動的構造変化のクロマチン構造変化の中での関係性やその重要性、ヒストンテイルの挙動の詳細が明らかになると期待されます。

本研究は、『iScience』に掲載されます。（10月23日オンライン）

### 研究成果のポイント

- これまで見えなかったヒストンシャペロン FACT によるヒストンテイルの動的構造変化を核磁気共鳴（NMR）で初めて解明
- FACT がクロマチンの基本構造であるヌクレオソーム中の DNA と一部置き換わることで、ヒストン H3 テイルが動的に DNA から解放されることを発見
- 今後、この動的構造変化のクロマチン構造変化の中での関係性やその重要性、ヒストンテイルの挙動の詳細が明らかになると期待

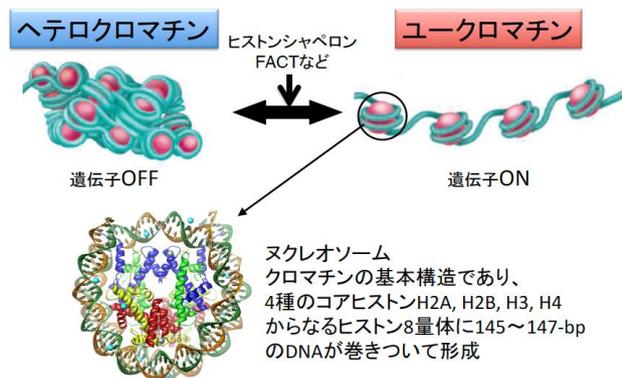
### 研究の背景

私たちヒトを含む多細胞生物の体を形づくるすべての細胞は、受精卵から受け継いだ同じ DNA を有していますが、どの遺伝子が機能するかによって多様な細胞へと分化し、全体として統制のとれた一つの個体となります。このように DNA 配列の変化を伴わず、個々の細胞ではたらく遺伝子の種類を厳密に制御する仕組みは、エピジェネティクス制御とよばれ、遺伝子を収納しているゲノム DNA の構造変化に依存して行われます。

ゲノム DNA は真核生物では染色体として細胞核内に非常にコンパクトな形で収納され、DNA とヒストン蛋白質<sup>\*1</sup> が合わさったクロマチン繊維が何重にも折り畳まれた複雑な構造をしています。さらにヒストン蛋白質の末端（ヒストンテイル<sup>\*2</sup>）のアセチル化、メチル化、リン酸化、ユビキチン化などの翻訳後修飾はクロマチン構造を変化させ、遺伝子のはたらきを制御していることが知られています。このような染色体構造には大きく分けて、クロマチンが凝集して遺伝子があってもはたらかない構造領域（ヘテロクロマチン）と、ほどけていて遺伝子が活発にはたらく構造領域（ユークロマチン）とがあります（図1）。

これらヘテロクロマチンとユークロマチンの境界で、両方のクロマチン構造に関係し、その構造変化を誘導している蛋白質が、ヒストンシャペロン FACT (facilitates chromatin transcription) です。FACT は SSRP1 と SPT16 からなるヘテロダイマーを形成する蛋白質として、DNA から RNA が合成される際にクロマチンの基本構造であるヌクレオソーム（図1）を変形させて RNA ポリメラーゼ II の通過を

図1. ヘテロクロマチンとユークロマチン



助けることが知られております。

我々は以前、クライオ電子顕微鏡を用いて、FACT とヌクレオソームの複合体の立体構造を解析することに世界ではじめて成功しました。これにより、FACT のリン酸化された酸性アミノ酸に富む領域 (pAID) は、ヌクレオソームから DNA が部分的にはぎ取られて露出したヒストンの表面に結合し、まるで DNA のように振る舞って、ヌクレオソーム中の DNA の一部と置換されることが明らかとなりました (図 2)。しかし、この構造解析では、ヌクレオソーム内部のヒストンのコア構造はほとんど変化しておらず、クロマチン構造変化の原因となるヌクレオソームから突き出ているヒストンテイルの構造はふらふらと動いているため、動的な構造の解析が難しい電子顕微鏡では可視化できず、FACT によってヒストンテイルの動的構造がどのように変化しているのかは不明でした。

そこで我々は、動的構造解析が可能な高磁場 NMR 分光器<sup>3</sup>を用いて、FACT がヌクレオソームのヒストンテイルの動的構造をどのように変化させ、クロマチン構造変化に導いているのかを明らかにしました。

## 研究の内容

本研究では、ヌクレオソーム中の DNA が FACT の pAID 領域と一部置換された複合体のヒストン H3 テイルを本学の高磁場 NMR 分光器を用いて解析し、H3 テイルの各々のアミノ酸残基が二つの分離した NMR シグナルとして観察されること発見しました (図 3 青)。これは同様の電子顕微鏡構造では全く可視化できなかったヒストン H3 テイルが二つの異なる動的構造をとることを示しています。これら二つの動的構造は、FACT とヌクレオソームの複合体の非対称な電子顕微鏡構造を反映しており、一方はヒストンテイルが通常のヌクレオソームと同じ二つの DNA によって囲まれた配置 (DNA side)、もう一方は pAID 蛋白質と DNA によって挟まれた配置 (pAID side) と考えられます (図 2)。この考察と一致して、二つの NMR シグナルの一方は、対称的な構造をとる通常のヌクレオソームの H3 テイルのシグナル (図 3 赤)とほとんど重なったため、DNA side の H3 テイルに対応します。一方、もう片方のシグナルは通常のヌクレオソームを

図 2. FACT-pAID とヌクレオソーム複合体の立体構造

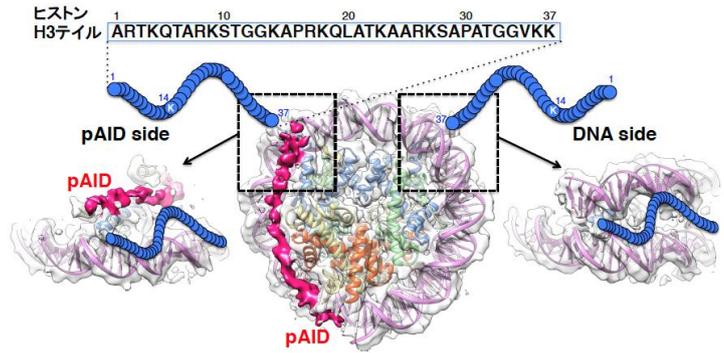


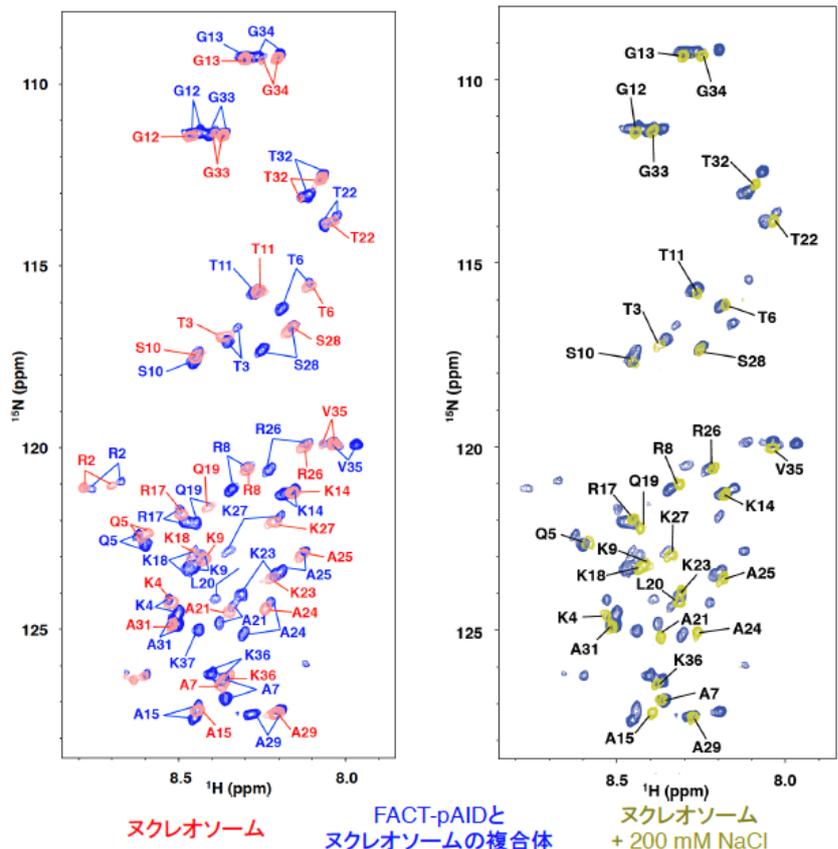
図 3. 各種複合体の NMR スペクトル

青のシグナル：FACT-pAID とヌクレオソームの複合体の NMR シグナル (左右の図で共通)

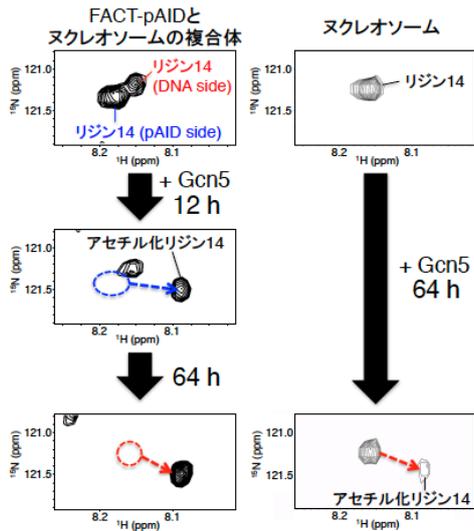
赤のシグナル：ヌクレオソームの NMR シグナル (左図のみ)

黄のシグナル：高塩濃度条件下のヌクレオソームの NMR シグナル (右図のみ)

それぞれのシグナルはヒストン H3 テイルの各々のアミノ酸残基 (番号は N 末端から何番目かを数字で示す) に対応し、その周辺の化学的な環境によってシグナルの位置が変化する。青のシグナルはアミノ酸一つにつき二つのシ



**図 4. Gcn5 によるリジン 14 のアセチル化**



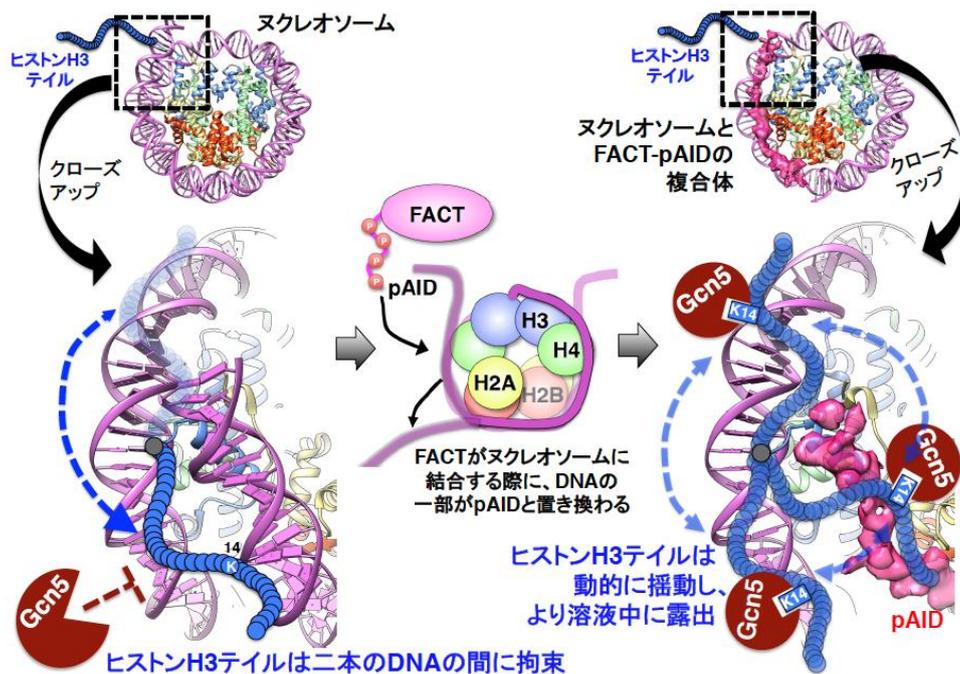
高塩濃度 (200 mM NaCl) の条件下で観察した場合の NMR シグナル (図 3 黄) とほぼ重なります。これは、この pAID side に対応する H3 テイルが、高塩濃度によって DNA との相互作用が弱められた状態と同様に、DNA から解放されたより動的な構造を取っていることを示します。これらの結果と合致して、pAID side の H3 テイルは、DNA side やヌクレオソームの H3 テイルに比べて、Gcn5 というヒストンアセチル化酵素による H3 の 14 番目のリシン残基のアセチル化の速度が早くなることも見出しました (図 4)。つまり、pAID side の H3 N テイルは動的に DNA や pAID と相互作用しながら、より溶液中に露出しており、ヒストン修飾酵素などの影響を受けやすいのに対して、DNA side や通常のヌクレオソームの H3 テイルはヌクレオソームの二本の DNA に囲まれた構造スペースにその相互作用により拘束されていて、ヒストン修飾酵素のアクセスを強く阻害することがわかりました (図 5)。

このように本研究はヒストンシャペロン FACT がヒストンテイルの動的挙動に大きな影響を及ぼすことを実験的に証明した世界で初めての報告です。この研究成果は本学が誇る世界屈指の高磁場 NMR 分光器を用いなければ達成できませんでした。さらにこの結果は、遺伝子不活性型クロマチン (ヘテロクロマチン) から遺伝子活性化型クロマチン (ユークロマチン) への構造変化を理解する上でこれまで想像もつかなかった新たな観点を与え、クロマチン構造変化やエピジェネティクス制御を研究する研究者に大きなインパクトを与えると期待しております。

### 今後の展開

今回の研究は、ヒストンシャペロン FACT がヌクレオソーム中の DNA と一部置き換わることで、動的なヒストン H3 テイルが DNA から解放されることを明らかにしました。FACT 以外にもヌクレオソームの DNA の一部をヒストンから引き剥がすクロマチン結合因子は存在します。例えば、ヒストンバリエーション、パイオニア転写因子、クロマチンリモデリング因子、RNA ポリメラーゼ II などです。これらの因子は全てクロマチン構造変化に関係する因子であり、FACT と同様にヒストンテイルの動的構造変化が引き起こされる可能性が高いです。本研究の解析に用いた手法を援用することにより、上記の因子によって引き起こされたクロマチン構造変化の中でヒストンテイルの動的構造変化がどのように関係し、重要なはたらきをしているのかを今後解明でき、ヒストンテイルの挙動の詳細が明らかになると期待しております。

図 5. pAID side と DNA side におけるヒストンテイルの挙動とヒストン修飾酵素のアクセス



### 用語説明

#### \*1 ヒストン蛋白質:

核に存在する塩基性蛋白質。正に荷電した塩基性アミノ酸を豊富に含み、DNAの負に荷電したリン酸基と強く相互作用する。一般的に H1、H2A、H2B、H3、H4 の 5 種類が存在し、真核生物の核内では、DNA が 4 種類のコアヒストン (H2A、H2B、H3、H4) から成るヒストン 8 量体に巻き付いて、ヌクレオソームを形成する (図 1)。この DNA とヒストンの複合体であるヌクレオソームが連なった構造をクロマチンと呼ぶ。

#### \*2 ヒストンテイル:

ヒストン蛋白質のコアの構造領域に含まれない N 末端・C 末端側の領域。ヒストンテイルはある固まった構造を取らないでふらふらと動的に動いており、アセチル化、メチル化、リン酸化、モノユビキチン化など様々な翻訳後修飾を受けていることが報告されている。これらの修飾はクロマチン構造を変化させ、エピジェネティックな遺伝子発現制御に関与する。

#### \*3 NMR 分光器:

強い磁場中で特定の原子核スピンの向きが揃えられた化合物や蛋白質などに対し、ラジオ波を照射して核磁気共鳴させた後、核スピンの元の安定な状態に戻る際に出す信号を観測して、原子の配置などを解析する装置。ふらふらと揺らいでいる蛋白質部位の原子レベルでの同定が可能である。

### 掲載論文

#### Partial replacement of nucleosomal DNA with human FACT induces dynamic exposure and acetylation of histone H3 N-terminal tails

Yasuo Tsunaka, Hideaki Ohtomo, Kosuke Morikawa, and Yoshifumi Nishimura

*iScience* October 23, 2020 doi : <https://doi.org/10.1016/j.isci.2020.101641>

※本研究は、国立研究開発法人日本医療研究開発機構 (AMED) 「創薬等ライフサイエンス研究支援基盤事業」、文部科学省「先端研究基盤共用促進事業 (共用プラットフォーム形成支援プログラム) NMR 共用プラットフォーム」、日本学術振興会 (JSPS) 科学研究費基盤研究 (C) JP18K06064 の研究の一環で行われました。



**SUSTAINABLE  
DEVELOPMENT  
GOALS** 横浜市立大学は、  
様々な取り組みを  
通じてSDGsの達  
成を目指します。

