

研究 成 果 報 告 書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) AB		X 線結晶構造解析が不可能な修飾ヌクレオソームコアの構造解析			
研究テーマ (欧文) AZ		Structural Characterization of Modified Nucleosome Core Particle - non-crystallizable protein machineries -			
研究氏 代 表 名 者	カタカナ CC	姓) アカシ	名) サトコ	研究期間 B	2013 ~ 2015年
	漢字 CB	明石	知子	報告年度 YR	2015年
	ローマ字 CZ	AKASHI	SATOKO	研究機関名	横浜市立大学
研究代表者 CD 所属機関・職名		横浜市立大学生命医科学研究科・准教授			
<p>概要 EA (600 字～800 字程度にまとめて下さい。)</p> <p>現在はその不均一性から構造解析が容易でない、ヒストンタンパク質が種々の修飾をうけたヌクレオソームコア (NCP) やヒストン多量体が、修飾前後でどのようにその構造が変化して転写制御されるのか、質量分析等の実験手法を用いて解析することで、メカニズムの解明につながる構造基盤を獲得することを目指して研究を行った。</p> <p>試料は、リコンビナントの手法で得られたヒストンタンパク質および 146 もしくは 147 塩基対の DNA から再構成した NCP およびヒストン多量体を調製して、実験に用いた。テイル領域の振る舞いを明らかにするため、野生型に加えてテイル欠損変異体 ΔN-H2A, ΔNC-H2A および ΔN-H2B を調製し H2A/H2B 二量体を再構成してイオンモビリティ質量分析 (IM-MS) および MD シミュレーションで解析した。その結果、テイル領域が気相での構造多様性を生み出していること、テイル領域が短くなるほど多様性の度合いが低くなること、アセチル化によりテイル領域における正電荷を中和しても気相での構造多様性には大きな変化が見られないこと、そして N 末端、C 末端の全てのテイル領域をほぼすべて欠損させるとコア部分のフォールドが一部失われること等がわかった。N-テイル上の Lys のアセチル化では、修飾に伴う物理化学的性質の顕著な変化が質量分析では観測されないのに対し、Arg の脱イミノ化では未修飾体およびアセチル化体に比べて気相での安定性が向上することもわかった。さらに、Lys をアセチル化した NCP を調製し、アセチル化前後での衝突断面積および高濃度 (>1 M) の酢酸アンモニウム水溶液における安定性の違いを IM-MS で解析した。その結果、ヒストンモノマー当たり 1-3 残基程度のアセチル化では衝突断面積には差が見られないのに対し、1 M 酢酸アンモニウム水溶液で調製した NCP は、アセチル化されると気相での安定性が低くなることがわかった。</p>					
キーワード FA	ヒストン	質量分析	MD シミュレーション		

(以下は記入しないで下さい。)

助成財団コード TA					研究課題番号 AA								
研究機関番号 AC					シート番号								

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入して下さい。）										
雑誌	論文標題 ^{GB}	Mass spectrometric approach for characterizing the disordered tail regions of the histone H2A/H2B dimer.								
	著者名 ^{GA}	Saikusa, K., et al.	雑誌名 ^{GC}	Anal. Chem.						
	ページ ^{GF}	2220 ~ 2227	発行年 ^{GE}	2	0	1	5	巻号 ^{GD}	87 (4)	
雑誌	論文標題 ^{GB}	Charge-neutralization effect of the tail regions on the histone H2A/H2B dimer structure								
	著者名 ^{GA}	Saikusa, K., et al.	雑誌名 ^{GC}	Protein Sci.						
	ページ ^{GF}	1224 ~ 1231	発行年 ^{GE}	2	0	1	5	巻号 ^{GD}	24 (8)	
雑誌	論文標題 ^{GB}									
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}							
	ページ ^{GF}	~	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}		
図書	著者名 ^{HA}									
	書名 ^{HC}									
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}		
図書	著者名 ^{HA}									
	書名 ^{HC}									
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}		

欧文概要^{EZ}

To obtain structural basis for controlling mechanism of transcription initiation by histone modification, histone multimers and nucleosome core particle (NCP) were prepared and characterized by mass spectrometry. In addition to wild-type, N- and/or C-tail truncated mutants of histone monomers, Δ N-H2A, Δ NC-H2A, and Δ N-H2B, were prepared, and mutant histone H2A/H2B dimers and NCP were re-constituted. By ion mobility mass spectrometry (IM-MS) and molecular dynamics (MD) simulation of the wild-type and mutant H2A/H2B dimers, it was found that (1) variety in the collision cross section in the gas phase was caused by the random behaviors of the tail regions, (2) diversity in the collision cross section was reduced as the tail regions were shortened, (3) acetylation did not affect the structural diversity in the gas phase, and (4) helical fold was partly collapsed in the Δ NC-H2A/ Δ N-H2B dimer. When the dimer was acetylated, no distinct change was observed in biophysical characteristics whereas deimination stabilized the dimer in the gas phase. In contrast, acetylated NCP showed higher stability in the gas phase than the wild-type when it was prepared in 1 M ammonium acetate and subjected to MS. In this study, we could demonstrate using mass spectrometry that disordered tail regions play an important role in stabilizing the conformation of the core region of the dimer and NCP in solution and gas phases.