

TSUBAME 共同利用 平成28年度 学術利用 成果報告書

利用課題名 転写サイクルを制御する蛋白質複合体ダイナミクスの解析  
英文: Analysis of protein complex dynamics controlling transcription cycle

利用課題責任者: 中村春木  
Haruki Nakamura

所属: 大阪大学蛋白質研究所  
Affiliation: Institute for Protein Research, Osaka University  
URL: <http://www.protein.osaka-u.ac.jp/rcsfpi/>

邦文抄録(300 字程度: 307 文字)

DNA 上に記された遺伝情報を読み取る転写の過程は、開始・RNA 鎖の伸長・終結という転写サイクルと呼ばれる段階からなっており、多数の転写因子とそれらの間の相互作用によって精緻に制御されている。近年、種々の転写因子や RNA ポリメラーゼの立体構造が X 線結晶解析によって明らかにされたが、それらの因子間の動的な相互作用については未知のことが多い。我々は最近結晶構造が明らかにされた Ets1-Runx1-CBF $\beta$ -DNA 複合体に着目し、独自の分子動力学計算プログラム myPresto/psygene-G を Tsubame2.5 上で稼働させ、転写因子 Runx1-CBF $\beta$  が DNA を介して Ets1 の機能制御を行う分子機構を調べた。

英文抄録(100 words 程度: 94 words)

Process to read out genome information coded on DNA is performed by a transcription cycle, composed of Initiation, Elongation of an RNA chain, and Termination, under precise regulation by lots of transcription factors and interactions among them. Although tertiary structures of many transcription factors and RNA polymerases have been determined, there are still many unknown interactions among those factors. We investigated the molecular mechanics of the transcription factor, Runx1-CBF $\beta$ , for Ets1-Runx1-CBF $\beta$ -DNA complex, the crystal structure of which has been recently solved, by performing molecular dynamics simulations with our own program, myPresto/psygene-G, on Tsubame 2.5.

*Keywords: Molecular Dynamics, transcription factor, myPresto, protein-DNA complex, transcription cycle*

#### 背景と目的

転写サイクルは DNA 上において多種多様な分子が織りなす複雑な過程の集合として実現される。転写サイクルの一部である発現制御は生命において極めて本質的であり、状況に応じて各遺伝子の発現量が精緻に制御されることで生命としてのシステムが機能している。しかしながら転写因子による発現制御の分子機構は未解明な点を多く残している。とりわけ、DNA 上の制御エレメントにおいて多種の転写因子が会合して転写制御複合体(エンハンソーム)を形成することはよく知られているが、その複雑な分子間コミュニケーションの微視的ダイナミクスと転写サイクルの制御メカニズムの解明は長年の課題となっている。

そこで本研究では、主要な転写因子のひとつである Ets1 に着目し、TCR $\alpha$  遺伝子制御エレメント上での Runx1 および CBF $\beta$  との会合によるエンハンソーム形

成と機能制御のメカニズムを解明することを目的とする。

Ets1-Runx1-CBF $\beta$ -DNA の複合体は最近横浜市立大学の緒方一博教授、椎名政昭助教らによって X 線結晶構造が報告されており、Ets1 と Runx1-CBF $\beta$  ヘテロダイマーが DNA を挟んだ逆側に配置しており、直接のコンタクトがないことが明らかにされている。この転写因子複合体において複数の転写因子がどのようにコミュニケーションし、アロステリックな効果を発現しているのか、その分子機構を分子動力学(MD)シミュレーションによって明らかにすることを目的とした。

#### 概要

我々が独自に開発した MD 計算プログラム myPresto/psygene-G を利用して、Ets1-Runx1-CBF $\beta$ -DNA 複合体のダイナミクスを解析した。また新規に開発したダイナミクスの解析手法である

multi-modal dynamic cross correlation (mDCC) 法を利用し、分子マシナリーにおけるアロステリイの分子機構を解明した。その結果、Runx1-CBF $\beta$  ヘテロダイマーが結合することによって DNA のコンフォメーション変化が起こり、これを介して Ets1 のダイナミクスが変化するメカニズムが明らかにされた。

#### 結果および考察

Ets1-Runx1-CBF $\beta$ -DNA 複合体を始め、Ets1-DNA 複合体、DNA のみのモデルについて MD 計算を行った。その結果、Runx1-CBF $\beta$  ヘテロダイマーが存在する場合は DNA における特定の塩基のコンフォメーションが有意に変化することが分かった。この塩基は Ets1 の H12、H1 ヘリックス間のループ領域と相互作用しているが、Ets1-DNA モデルでは Ets1-Runx1-CBF $\beta$ -DNA 複合体と比べこのループの相互作用がより安定であった。すなわち Runx1-CBF $\beta$  ヘテロダイマーとの結合によって DNA のコンフォメーション変化が起こり、これが Ets1 ループ領域との相互作用を不安定化していると言える。これによってループの揺らぎが増大し、複数のコンフォメーションを過渡的に形成する現象が観測された。さらにループから N 末端側の自己阻害モジュールの顕著な不安定化が観測された。すなわち Runx1-CBF $\beta$  ヘテロダイマーの結合が自己阻害モジュールによる DNA 結合阻害を弱めているものと考えられる。さらに mDCC 法による解析では、Runx1-CBF $\beta$  から DNA を介して Ets1 に至る動的相関のネットワークを確認できた。

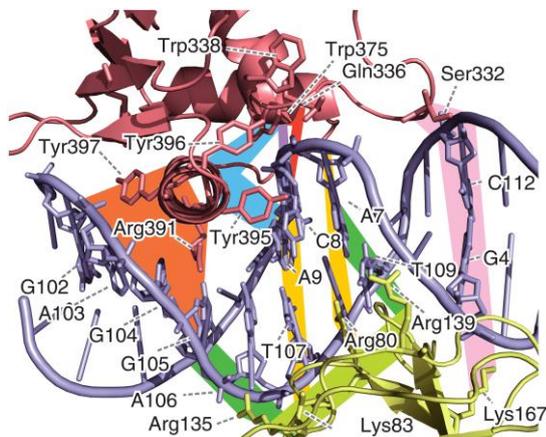


図 1. Ets1-DNA-Runx1 界面における相関ネットワーク。Kasahara et al., 2017 PLoS ONE [doi.org/10.1371/journal.pone.0172654](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0172654) より転載 (CC BY 4.0 ライセンス)

#### まとめ、今後の課題

我々が独自に開発した MD 計算プログラム myPresto/psygene-G を Tsubame2.5 上で利用することで、転写サイクルにおいて本質的な役割を果たす Ets1-Runx1-CBF $\beta$ -DNA 転写因子複合体のダイナミクスを解析した。これによって複合体内でのアロステリイの分子基盤を理解することができた。今後は Ets1 における自己阻害モジュールや天然変性領域などの解析を進め、Ets1 の機能制御について包括的な理解を目指す。