

提出日：2019年 5月 7日

平成 30 年度 大阪大学蛋白質研究所 拠点事業

(2) 研究成果の概要

課題名	DNA 複製に関わるタンパク質群の精密構造解析		
研究代表者	氏名	大山 拓次	
	所属機関名・部局名	山梨大学・大学院総合研究部	
	職名	准教授	
事業名 (該当の事業名の右欄に○)	<input type="radio"/>	共同研究員	
	<input type="radio"/>	超高磁場NMR 共同利用研究課題	
	<input type="radio"/>	クライオ電子顕微鏡共同利用研究課題	
	<input type="radio"/>	客員フェロー	
蛋白研受入担当教員名	蛋白質結晶学研究室 栗栖 源嗣 教授		
<p>DNA の複製は全生物にとって必須であり、基本的な仕組みは生物種を超えて保存されている。これまで我々は、複雑な真核生物の DNA 複製機構を理解する上で重要なモデルとなる超好熱古細菌 <i>Pyrococcus furiosus</i> (Pfu) や <i>Thermococcus kodakarensis</i> (Tko) のタンパク質群を用い、DNA 複製および修復の原子レベルでの解明を目標とし、特に近年は蛋白質結晶学研究室との共同研究のもと、MCM ヘリカーゼをコアとする CMG ヘリカーゼホロ酵素、およびスライディングクランプ PCNA の DNA 鎖への装てんに必須のクランプローダー RFC の構造機能相関に焦点を当て、高分解能立体構造決定を目指している。</p> <p>(1) CMG ヘリカーゼホロ酵素複合体: CMG は DNA 複製開始初期に鋳型 DNA 解きほぐす役割を担い、3 つの因子 (MCM、Cdc45、GINS) がリン酸化による制御を受けながら順次 DNA 上にロードされることによって形成され、機能複合体となって鋳型 DNA を解きほぐし、複製フォーク形成へと導く。近年 CMG との直接結合が想定されていなかった DNA 複製因子の一つが CMG と機能的相互作用することが明らかとなった。そこで、この相互作用の機能的意義の解明を目指し、機能的部分複合体の結晶構造解析実験を行い、最高 3.0 Å 分解能で X 線回折データを得た。</p> <p>(2) RFC: DNA 代謝酵素のユニバーサルプラットフォームとして機能する PCNA を DNA 鎖への装てん役割を果たす RFC に関し、原子レベルでの機能解明を目指し、高分解能構造解析に向け、精製アフィニティタグとの融合タンパクとしての RFC 精製条件を詳細に検討した。特にあるタグを導入した場合に、純度、収量、精製ステップすべての点で最も有望であることが分かった。</p> <p>(3) 植物 PCNA: 植物は我々ヒトと同じく真核多細胞生物と分類されているが、形態の大きな差異は動植物間で DNA 複製の差異に関わるか否か、興味を持たれる。シロイヌナズナを植物の例とし、正確かつ迅速な DNA 複製の鍵となるタンパク質である PCNA について、以前に構造を決定した時と異なり、PCNA 結合性タンパク質由来のペプチドを一切含まない条件下で結晶化に成功した。</p>			

※本様式は、“拠点事業成果報告”として、拠点ホームページにて公開させていただく予定です。

※必ず A4 用紙 1 枚におさめて下さい。 ※提出期限：令和元年 5 月 17 日（金） ※提出の際は PDF 変換して下さい。

※提出先：大阪大学蛋白質研究所拠点プロジェクト班 E-mail: tanpakuken-kyoten@office.osaka-u.ac.jp