

(様式 1-2)

提出日：2020 年 4 月 27 日

2019 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	栗栖源嗣 蛋白質結晶学研究室・教授	
<p>CMG 関連複合体：CMG には幾つかの複製開始点着火因子が機能的相互作用を行う。それらのうちのひとつが MCM では無く、GAN-GINS 複合体に安定に結合することが明らかとなった。この 3 者複合体について、昨年度の近原子分解能での基本構造決定後、今年度は高分解能 (2.45Å) での結晶構造決定に成功した。着火因子の小ドメインは GINS サブユニットに結合し、GAN との接触は見られなかった。以前の解析と合わせて考察すると、この GINS サブユニットの機能ドメインは、わずか約 60 アミノ酸残基と小さいながら、GINS 全複合体中での他の領域との結合、GAN との結合、着火因子との結合と 3 パターンもの相互作用を示し、そのうち 2 パターンは排他的である。したがって、GINS と他の因子間の相互作用を詳細に分析することにより、GINS に結合するモチーフを同定できるかもしれない。</p> <p>RFC 関連複合体：RFC 高分解能結晶構造決定を目指し、物理的強度が増すことによる高分解能化の可能性に賭けて、アガロースゲル内での結晶化を試みた。その結果、結晶サイズはまだ小さいながら、再現性良くゲル内で結晶を得ることに成功した。</p> <p>植物 PCNA-FEN-1 PIP-box ペプチド複合体：<i>Arabidopsis thaliana</i> PCNA1 および PCNA2 について、いずれも His タグ融合体として大腸菌発現系にて大量発現と 2 ステップのカラムクロマトグラフィーにより高純度に精製し、これまで成功しなかった植物 PCNA 単独の結晶化に成功した。また、FEN-1 PIP-box との複合体は以前の解析 (Strzalka et al., <i>Protein Sci</i> 2009) とよく似た条件で結晶を得た。結晶化については成果を発表した (Kowalska et al., <i>Acta Biochem Pol</i> 2020)。いずれもシンクロトロン放射光にて高分解能の X 線回折データを収集し、基本構造は決定した。現在精密構造解析を進めている。</p>		