

(様式 1-2)

提出日：2020 年 5 月 15 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		CENP-SX 複合体による DNA 認識機構解析	
研究代表者	氏名	西野達哉	
	所属機関名・部局名	東京理科大学基礎工学部生物工学科	
	職名	准教授	
事業名 (該当の事業名の右欄に○)	○	共同研究員	
		超高磁場NMR 共同利用研究課題	
		クライオ電子顕微鏡共同利用研究課題	
		客員フェロー	
蛋白研受入担当教員名		中川 敦史	
<p>CENP-SX は二重鎖 DNA 切断修復に関わる FANCM と複合体を形成し、FANCM の DNA 結合能を向上させる。一方、我々が以前報告した様にキネトコア形成においては CENP-TW と複合体を形成し、微小管接着に重要なアウターキネトコアの構築の安定性に寄与している。DNA 修復とキネトコア形成で機能する CENP-SX の DNA 結合能が両経路で重要であることが示唆されるが、その詳細は高分解能で明らかになっていない。そこで CENP-SX の DNA 認識機構について構造生物学的に解析を進めた。その結果、ニワトリ由来 CENP-SX と DNA の複合体の結晶構造を最高分解能 3.5Å で明らかにした。その結果、30 bpDNA 一分子に対して三分子の CENP-SX 4 量体が DNA の副溝にそって 90 度ずつ配置している様子をとらえた。これは先行研究のゲルシフト DNA 結合アッセイで観察された一定の間隔で形成される CENP-SX-DNA 複合体のラダー(階段状)バンドの実態を説明するものと考えられる。結晶構造から CENP-SX の規則的な DNA 結合を可能にすると考えらえる極性アミノ酸の電荷を逆にした変異体を作製し、ゲルシフトアッセイした結果、CENP-SX-DNA 複合体のラダーバンドが消失し、バンドがスミアになることが観察された。この変異体を CENP-TW と複合体形成させ、ゲルシフトアッセイするとスミアだったバンドがラダー状に戻った。この結果は CENP-TWSX 複合体では CENP-SX 以外に規則的に DNA に結合する相互作用が別に存在することが示唆された。</p>			