

様 式 F - 7 - 1

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）実施状況報告書（研究実施状況報告書）（平成 26 年度）

1. 機関番号

1	4	6	0	3
---	---	---	---	---

 2. 研究機関名 奈良先端科学技術大学院大学

3. 研究種目名 基盤研究(C) 4. 補助事業期間 平成 25 年度～平成 27 年度

5. 課題番号

2	5	4	4	0	0	2	4
---	---	---	---	---	---	---	---

6. 研究課題名 X線結晶解析によるブルーム症候群BLMヘリカーゼのがん抑制機構解明

7. 研究代表者

研究者番号	研究代表者名	所属部局名	職名
4 0 3 4 6 3 0 9	キタノ ケン 北野 健	バイオサイエンス研究科	助教

8. 研究分担者

研究者番号	研究分担者名	所属研究機関名・部局名	職名

9. 研究実績の概要

ブルーム症候群は、10 代にして様々な悪性腫瘍を頻発する高発がん性の病気（常染色体劣性の遺伝病）である。二本鎖 DNA を一本にほどく（巻き戻す）ヘリカーゼの一種、BLM (Bloom syndrome protein) が変異によって機能欠損してしまうことで引き起こされる。本研究では、BLM タンパク質の立体構造解析を進めて、その優れたヘリカーゼ活性の仕組みに迫ることを目的としている。

今年度はまず、BLM ヘリカーゼの、ホリデイジャンクション（ゲノム損傷の修復中間体である十字型 DNA 構造）への結合様式を調べるために、複合体モデル構造の構築作業を行った。ここでは、昨年度に決定した BLM RQC (RecQ C-terminal) ドメインの X 線構造データと変異体実験の結果 (Kim et al, 2013, Sci. Rep. ; PDB IDs : 3WE2 and 3WE3) が役立った。作成したモデル構造を用いて解析を進めた結果、BLM ヘリカーゼによるホリデイジャンクション解きほぐし反応と、DNA の認識機構について、新たな知見を得ることができた。これらの研究成果をまとめた論文を作成して、国際科学ジャーナルに発表することができた (Kitano, 2014, Front. Genet .)。また同研究成果に関して、国内学会誌での論文発表 (北野, 2014, 日本結晶学会誌) と、学会シンポジウムでの講演発表 (北野, 2014, 第87回 日本生化学会大会) も行った。

また、環状ペプチド誘導体による三量体 G タンパク質の阻害機構に関して、他のタンパク質立体構造と比較することによって導き出された新たな知見を、国内学会誌に発表した (北野, 2014, 生物物理)。

10. キーワード

- | | | | |
|-------------|-----------------|-----------|------------|
| (1) タンパク質 | (2) DNA | (3) ヘリカーゼ | (4) X線構造解析 |
| (5) ブルーム症候群 | (6) ホリデイジャンクション | (7) | (8) |

11. 現在までの達成度

(区分)(3) やや遅れている。

(理由)

当初の予定になかった作業 (BLM ヘリカーゼとホリデイジャンクションの複合体モデル構造の構築) を、急遽おこなう必要性が生じた。さらに、同構造情報に基づいて、ホリデイジャンクション分岐点の移動反応を、コンピュータを用いて調べる必要性が生じた。これらの解析作業と、発表論文の作成執筆を優先させたことで、予定していた研究に遅延が生じたため。

12. 今後の研究の推進方策 等

(今後の推進方策)

昨年度に決定した BLM RQC ドメインの立体構造、および本年度に構築した BLM ヘリカーゼの複合体モデル構造を活用して、同タンパク質が、ホリデイジャンクションなど入り組んだ形状の DNA を解きほぐす仕組みの解析を進める。引き続き、新しい立体構造情報の取得を自指して、BLM ヘリカーゼ (および WRN ヘリカーゼ) の結晶化実験を進める。

(次年度使用額が生じた理由と使用計画)

(理由)

次年度使用額が生じた理由は、BLM タンパク質の研究の進捗状況に合わせて、予算執行計画を変更したことに伴うものである。

(使用計画)

今後、未使用額の研究費は、タンパク質と DNA の X 線結晶解析に必要な、消耗品器具の購入、試薬の購入、放射光施設スプリング 8 への国内旅費、学会で研究成果を発表するための国内および海外旅費、そして科学雑誌で研究成果を論文発表するための出版料などに使用する予定である。

13.研究発表(平成26年度の研究成果)

(雑誌論文) 計(3)件 うち査読付論文 計(3)件

著者名		論文標題			
Ken Kitano		Structural mechanisms of human RecQ helicases WRN and BLM.			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	
Frontiers in Genetics	有	5	2 0 1 4	366	
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)					
10.3389/fgene.2014.00366					

著者名		論文標題			
北野 健		ヒト RecQ ヘリカーゼ WRN と BLM の結晶構造解析			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	
日本結晶学会誌	有	56	2 0 1 4	133-138	
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)					
10.5940/jcrsj.56.133					

著者名		論文標題			
北野 健		環状ペプチドによる三量体Gタンパク質の新しい阻害機構			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	
生物物理	有	54	2 0 1 4	265-266	
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)					
10.2142/biophys.54.265					

〔学会発表〕計(2)件 うち招待講演 計(1)件

発表者名		発表標題	
Ken Kitano, Sun-Yong Kim, Toshio Hakoshima		Structural study of human RecQ helicases WRN and BLM.	
学会等名		発表年月日	発表場所
第87回 日本生化学会大会(招待講演)		2014年10月15日～2014年10月18日	国立京都国際会館(京都府京都市)

発表者名		発表標題	
Shin ichi Terawaki, Ken Kitano, Tomoyuki Mori, Yoshiki Higuchi, Norimichi Itoh, Takashi Watanabe, Kozo Kaibuchi, Toshio Hakoshima		Structural basis for the membrane-targeting of Rac-specific guanine nucleotide exchange factors, Tiam1/2.	
学会等名		発表年月日	発表場所
6th International Society for Neurochemistry (ISN) Special Conference		2014年09月20日～2014年09月22日	東京大学(東京都文京区)

〔図書〕計(0)件

著者名		出版社	
書名		発行年	総ページ数

14. 研究成果による産業財産権の出願・取得状況

〔出願〕計(0)件

産業財産権の名称	発明者	権利者	産業財産権の種類、番号	出願年月日	国内・外国の別

(取得) 計(0)件

産業財産権の名称	発明者	権利者	産業財産権の種類、番号	取得年月日	国内・外国の別
				出願年月日	

15.備考

--