

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 若手研究(B) 4. 補助事業期間 平成 25 年度～平成 27 年度

5. 課題番号

2	5	8	4	0	0	0	9
---	---	---	---	---	---	---	---

6. 研究課題名 DNA高次構造が制御するMre11 complexの新規DNA切断活性の解析

7. 研究代表者

研究者番号	研究代表者名	所属部局名	職名
9 0 5 4 6 2 9 3	フルコオリ アサコ 古郡 麻子	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

平成25年度に行った大腸菌SbcCDヌクレアーゼ活性についての基礎的な知見をもとに、様々な基質DNAを用いて更にSbcCDの特異的な切断様式の詳細を調べた。その結果、予想外にもDNA高次構造以外にもSbcCDの活性を制御する因子が複数存在することが明らかとなった。またその切断様式の解析から、これまで知られていなかったDNA結合切断様式があることを示唆する大きな成果を得ることができた（現在論文投稿中）。

またバキュロウイルス発現系を用いてヒトMre11/Rad50/NBS1の発現・部分精製を行いヌクレアーゼ活性の解析を行った。今後はヒトMre11 complexの精製を完了し、大腸菌SbcCDの解析で明らかとなった新たな切断様式がヒトMre11 complexにも保存されているかを中心に調べる予定である。

10. キーワード

(1) DNA修復	(2) DNA二本鎖切断	(3) Mre11 complex	(4)
(5)	(6)	(7)	(8)

11. 現在までの達成度

(区分)(3) やや遅れている。

(理由)

大腸菌SbcCDのヌクレアーゼ活性の詳細な解析を進めた結果、新たな活性制御機構がある事を示唆する結果を得た。重要な発見であるため、当初予定していたDNA結合様式の解析や構造解析などを延期し直ちに論文投稿準備を進めた結果、実験計画遂行に若干の遅れが生じた。ヒトMre11 complexの解析に関しては、バキュロウイルス発現系を用いた大量発現・精製は遂行できたが、予想以上に細胞由来ヌクレアーゼの混入により精製が難航したため、精製方法を変更する必要が生じこちらも若干計画に遅れが生じている。

12. 今後の研究の推進方策 等

(今後の推進方策)

今後はヒトMre11 complexの精製の完了、および大腸菌SbcCDの解析により見いだされた新たな切断様式がヒトMre11 complexに保存されているかを調べていく予定である。ヒトMre11 complexについては部分精製はできているため、精製完了にはさほど時間はかからない事が期待される。DNA結合様式の解析ではまずヌクレアーゼ活性をもたない変異型SbcCDを用いて行う予定であるが、こちらの精製は既に完了しているため平成27年度前半には行えると考えている。

(次年度使用額が生じた理由と使用計画)

(理由)

予想外の結果がでたため論文発表を進めた結果、研究計画が遅れ26年度中に終了する予定であった計画の全てを遂行することが出来なかった。特にヒトMre11 complexを使った実験、構造解析、相互作用解析等を完了する事が出来なかったため、予算を予定通りに執行する事が出来なかった。

(使用計画)

研究自体は順調に進み新たな知見も多く得られており、平成27年度はこれまでの知見を元にヒトMre11 complexの精製、解析をさらに進めるための試薬等を購入する予定である。また相互作用解析も平成27年度前半には行う予定であり、これに必要な試薬等も購入する予定である。

13.研究発表(平成26年度の研究成果)

(雑誌論文) 計(2)件 うち査読付論文 計(2)件

著者名		論文標題【掲載確定】			
Mio Ikeda, Asako Furukohri, Gaelle Philippin, Edward Loechler, Masahiro Tatsumi Akiyama, Tsutomu Katayama, Robert P. Fuchs and Hisaji Maki		DNA polymerase IV mediates efficient and quick recovery of replication forks stalled at N2-dG adducts			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	
Nucleic Acids Research	有	42	2014	8461-8472	
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)					
doi: 10.1093/nar/gku547					

著者名		論文標題【掲載確定】			
Kang Wei Tan, Tuan Minh Pham, Asako Furukohri, Hisaji Maki and Masahiro Tatsumi Akiyama		Recombinase and translesion DNA polymerase decrease the speed of replication fork progression during the DNA damage response in Escherichia coli cells			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	
Nucleic Acids Research	有	43	2015	1714-1725	
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)					
doi: 10.1093/nar/gkv044					

(学会発表) 計(2)件 うち招待講演 計(0)件

発表者名		発表標題【発表確定】	
Asako Furukohri, Mio Ikeda, Masahiro Tatsumi Akiyama, Tsutomu Katayama, Robert P. Fuchs and Hisaji Maki		Escherichia coli DNA polymerase IV mediates efficient and quick recovery of replication forks stalled at N2-dG adducts	
学会等名	発表年月日	発表場所	
DNA polymerases: Biology, Diseases and Biomedical Applications Conference 2014	2014年08月31日 ~ 2014年09月04日	Robinson College, Cambridge, England, UK	

発表者名	発表標題【発表確定】	
Asako Furukohri, Mio Ikeda, Masahiro Tatsumi Akiyama, Tsutomu Katayama, Robert P. Fuchs and Hisaji Maki	Escherichia coli DNA polymerase IV mediates efficient and quick recovery of replication forks stalled at N2-dG adducts	
学会等名	発表年月日	発表場所
The 9th 3R Symposium	2014年11月17日～2014年11月21日	御殿場高原ホテル、御殿場市

〔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

--