

様 式 C - 7 - 1

平成 2 6 年度科学研究費助成事業（科学研究費補助金）実績報告書（研究実績報告書）

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 新学術領域研究（研究領域提案型） 4. 研究期間 平成 2 5 年度～平成 2 6 年度
5. 課題番号

2	5	1	3	1	7	1	3
---	---	---	---	---	---	---	---
6. 研究課題名 DNA損傷部位で停止した転写装置が及ぼす複製フォークの進行阻害とその回復機構

7. 研究代表者

研究者番号	研究代表者名	所属部局名	職名
2 0 1 9 9 6 4 9	マキ ヒサジ 真木 寿治	バイオサイエンス研究科	教授

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

本研究の目的は、DNA損傷により停止した転写装置がDNA複製フォークの進行にどのような影響を与えるのかを分子レベルで解明し、転写装置により進行が阻害されたDNA複製がどのようにして回復するのかを明らかにすることである。本研究では、バルキアダクトDNA損傷としてベンツピレン付加体を用い、leading鎖およびlagging鎖に導入した鋳型DNAを調製することとしていた。昨年度の研究により、特定の部位にベンツピレン付加体を導入した鋳型DNAを用いた複製フォークの進行の阻害および回復の過程の詳細を明らかにした。しかし、in vitro oriCプラスミドDNA複製系での複製産物を詳細に検討した結果、複製を開始した分子の大部分が特定の長さまで伸長反応を進めた後で停止していることが明らかとなった。その後の解析から、これは複製フォークの進行に伴う正の超らせんの蓄積が原因であることが判明し、DNAジャイレースがそれ以降の複製フォークの進行に重要な働きを持つことが明らかとなった。鋳型の超らせん状態はRNAポリメラーゼのプロモーター結合や転写反応の進行にも大きな影響を及ぼすことが考えられる。そこで、本年度では、DNAジャイレースを含まない反応系で複製装置と鋳型DNAの複合体を形成させた後に、その複合体を分離する実験系の開発を試みた。タグを付加したTusタンパク質を用いて、ter配列を含むoriCプラスミドをアフィニティビーズで分離する実験系を構築し、分離された複製中間体複合体がDNAジャイレースを再添加することにより、複製フォークの進行が再開することを確認した。今後は、この系を用いて、DNA損傷を持つ鋳型DNA上での複製フォークのダイナミクスについて詳細な解析を行う。

10. キーワード

- | | | | |
|--------------|-------------|------------|-------|
| (1) 染色体再編・維持 | (2) 遺伝的不安定性 | (3) 複製フォーク | (4) |
| _____ | _____ | _____ | _____ |
| (5) | (6) | (7) | (8) |
| _____ | _____ | _____ | _____ |

11. 現在までの達成度

(区分)
(理由) 26年度が最終年度であるため、記入しない。

12. 今後の研究の推進方策

(今後の推進方策) 26年度が最終年度であるため、記入しない。

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			
Ikeda M, Furukohri A, Philippin G, Loechler E, Akiyama MT, Katayama T, Fuchs RP, Maki H.		DNA polymerase IV mediates efficient and quick recovery 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)					
10.1093/nar/gku547					

著者名		論文標題			
Tan K.W., Pham M.T., Furukohri A, Maki H. and Akiyama T.M.		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	1715-1725	
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)					
10.1093/nar/gkv044					

(学会発表) 計(8)件 うち招待講演 計(1)件

発表者名		発表標題	
Hang, L.P., Furukohri, A., Masuda, Y., Maki, S., Katayama, T., Fuchs R.P., and Maki, H.		A short CCG run in the Huntingtin gene is an obstacle for replicative DNA polymerases, potentially hampering fork progression.	
学会等名	発表年月日	発表場所	
DNA polymerases: Biology, Diseases and Biomedical Application Conference 2014	2014年08月31日 ~ 2014年09月04日	Robinson college, Cambridge (England)	

発表者名	発表標題	
Furukohri, A., Ikead, M., Akiyama, M., Katayama, T., Fuchs R.P., and Maki, H.	Escherichia coli DNA polymerase IV mediates quick recovery of repliation 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 Appliatuon Conference 2014	2014年08月31日 ~ 2014年09月04日	Robinson college, Cambridge (England)

発表者名	発表標題	
Pham, T.M., Tan, K.W., Sakumura, Y., Okumura,K., Furukohri, A., Maki, H.,and Akiyama, T.M.	A single molecule approach to DNA replication in Escherichia coli cells demonstrated that DNA polymerae III is a major determinant of fork speed.	
学会等名	発表年月日	発表場所
DNA polymerases: Biology, Diseases and Biomedical Appliatuon Conference 2014	2014年08月31日 ~ 2014年09月04日	Robinson college, Cambridge (England)

発表者名	発表標題	
Furukohri, A., Ikead, M., Akiyama, M., Katayama, T., Fuchs R.P., and Maki, H.	Escherichia coli DNA polymerase IV mediates quick recovery of repliation forks stalled at N2-dG adducts.	
学会等名	発表年月日	発表場所
The 9th 3R International Symposium	2014年11月11日 ~ 2014年11月21日	御殿場高原ホテル・静岡県・御殿場市

発表者名	発表標題	
Pham, T.M., Tan, K.W., Sakumura, Y., Okumura,K., Furukohri, A., Maki, H.,and Akiyama, T.M.	A single molecule approach to DNA replication in Escherichia coli cells demonstrated that DNA polymerae III is a major determinant of fork speed.	
学会等名	発表年月日	発表場所
The 9th 3R International Symposium	2014年11月11日 ~ 2014年11月21日	御殿場高原ホテル・静岡県・御殿場市

発表者名	発表標題	
古郡麻子、池田美央、西川義人、秋山昌広、片山 勉、Robert P. Fuchs、真木寿治	大腸菌損傷乗り越え型 DNA Polymerase IV の複製フォークにおける役割	
学会等名	発表年月日	発表場所
日本遺伝学会 第86回大会	2014年09月17日～2014年09月19日	長浜バイオ大学・滋賀県・長浜市

発表者名	発表標題	
Tang Kang Wei, Pham Minh Tuan, 古郡麻子、奥村克純、真木寿治、秋山昌広	大腸菌のSOS応答による複製フォーク速度の減速	
学会等名	発表年月日	発表場所
日本遺伝学会 第86回大会	2014年09月17日～2014年09月19日	長浜バイオ大学・滋賀県・長浜市

発表者名	発表標題	
Tang Kang Wei, Pham Minh Tuan, 古郡麻子、奥村克純、真木寿治、秋山昌広	大腸菌のSOS応答による複製フォークの進行速度の低下	
学会等名	発表年月日	発表場所
第37回 日本分子生物学会年会(招待講演)	2014年11月25日～2014年11月27日	パシフィコ横浜・神奈川県・横浜市

〔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

--