

染色体 DNA の複製開始複合体の精密構造が初めて見えるように — 遺伝情報の継承を担う複合体の分子機構の解明 —

概要

遺伝情報の継承のためには、遺伝子の実体となる染色体 DNA の複製が必要です。染色体 DNA の複製は、複製起点と呼ばれる DNA 領域での開始反応から始まります。開始反応では、通常 2 重鎖である DNA を開いて 2 つの 1 本鎖にします。そのような DNA の開裂を起こすため、複製起点には多数のタンパク質が結合して、複雑で動的な構造体が造られます。これが複製開始複合体です。しかし、これまでその構造や働きをはっきり見ることはできませんでした。

今回、高田彰二 京都大学大学院理学研究科教授、清水将裕 同大学院生、片山勉 九州大学大学院薬学研究院教授らの研究グループは、その壁を打ち破るため複製開始複合体の構造をコンピューターシミュレーションする研究（京都大学グループ）と生化学的に実験解析する研究（九州大学グループ）とを連携して進めました。対象としたのは、分子生物学のモデル生物となっている大腸菌の複製開始複合体です。新たに開発した計算手法を用いて、13 個のタンパク質が規則的に集合して造られる、複製開始複合体をコンピューター内で構築することに初めて成功しました。また、この複合体構造は生化学実験の結果とよく整合していることも確かめられました。これにより、この複合体の精密な構造や働きまで見えるようになり、DNA の構造が変換するメカニズムを合理的に説明できるようになりました。

この成果は遺伝情報の継承のメカニズムを理解するために欠かせないものです。また抗菌剤や抗がん剤の開発研究にも繋がるものです。さらに生命活動に重要な多くの複合体の構造解明のために活用できる、新たな手法を切り拓いたものです。本成果は、11 月 29 日に米国科学アカデミー紀要に掲載されました。

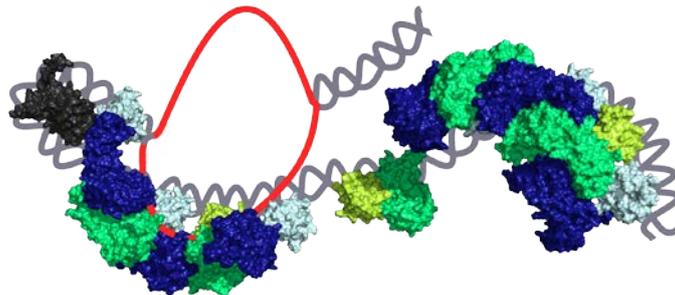


図 1 : 大腸菌 DNA の複製開始複合体の構造。複製起点の DNA 領域（灰色）に 13 個のタンパク質（青+水色、緑+黄緑、黒）が結合して、らせん型の複合体が作られる。1 部の DNA 領域が開裂する（赤）。「青+水色」は 1 個のタンパク質。「緑+黄緑」についても同じ。

1. 背景

染色体 DNA の複製は、あらゆる生き物にとって基本的、かつ遺伝情報の継承のために必須の過程です。染色体 DNA の複製は、複製起点と呼ばれる DNA 領域において、2 重鎖 DNA を部分的に開裂して 2 つの 1 本鎖にすることで開始します。この開始反応のために、複製起点には多数のタンパク質が結合し、複製開始複合体を形成します。

今回の実験で用いた大腸菌では、複製開始複合体に DnaA および IHF と呼ばれるタンパク質が含まれます。DnaA タンパク質は、複製起点の DNA 上に集積し DNA の構造に影響を与え、1 本鎖 DNA と結合する働きもあります。一方、IHF タンパク質は DNA を鋭く曲げる働きが知られています。それぞれの立体構造は知られていたのですが、複製起点 DNA 上で DnaA タンパク質がどのような空間配置をとって、全体としてどのような形になるのか、そして IHF タンパク質と共同して、どのようなメカニズムで 2 重鎖 DNA の開裂を進めるのか、よくわかっていませんでした。

2. 研究手法・成果

今回の研究は、複製開始複合体の構造をコンピューターシミュレーションする研究（京都大学グループ）と生化学的に実験解析する研究（九州大学グループ）との連携で進めていきました。

まず生化学実験情報を参考にして粗い分子モデルを用いたシミュレーションによって複合体構造を組み立て、次にその構造をすべての原子を含む高精度分子モデルに焼き直しました。最後に高精度のシミュレーションを続けることで、これまで不可能であった多数のタンパク質と DNA を含む複製開始複合体のコンピューター内で構築することに成功しました。この手法は今回の研究を通して新規に開発したものです。

コンピューターで構築した複製開始複合体は、複製起点の DNA、11 個の DnaA タンパク質（図 1 で緑と青の分子はすべて DnaA。分子を区別するために交互に配色）、2 個 1 組の IHF タンパク質（図 1 の黒）を含みます。コンピューターで構築した複製開始複合体は、両側にある 2 組の DnaA 5 量体と、中央で孤立した DnaA 単量体と 3 つの部分構造に分かれていました。

九州大学で行った生化学の実験を通して、コンピューターで構築した複製開始複合体の構造から予想される性質が、実験結果と高い整合性があることがわかりました。生化学的な解析では精製した DnaA タンパク質や IHF タンパク質を複製起点の DNA と結合させて、開始複合体を試験管内で再構成して行いました。

今回の研究成果により、開始複合体の構造や働きを原子レベルに近い精度で詳しく知ることができるようになりました。これは染色体 DNA が複製するメカニズムを理解するために欠かせないものです。また、今回分かった開始複合体の構造や働きは、多くの生物に共通する基本的な生命原理である可能性もあります。

3. 波及効果、今後の予定

多くの病原性細菌の複製開始複合体も、今回扱った大腸菌のものに似ていることが予想されます。つまり、病原菌の増殖メカニズムの解明や抗菌剤や開発研究にも繋がる成果だと考えられます。また、DnaA タンパク質に似たタンパク質がヒト細胞の染色体 DNA 複製開始複合体でも主要な役割を果たしていることから、抗がん剤などの開発研究にも繋がる可能性があります。

今回開発した解析手法は、生命活動に重要な多くの複合体の構造解明のために活用できるものです。

今後、より高度で複雑なタンパク質複合体の構造や働きの解明を計画しています。

4. 研究プロジェクトについて

・本研究は、日本学術振興会科学研究費助成金 15H01351, 26104517, 25251019, 16J02075, 26291004, および 16H00775、文部科学省 HPCI 戦略プログラム「予測する生命科学・医療および創薬基盤」、日本学術振興会特別研究員 (DC) による支援を受けて実施されました。

<論文タイトルと著者>

タイトル: Near-atomic structural model for bacterial DNA replication initiation complex and its functional insights

著者: Masahiro Shimizu, Yasunori Noguchi, Yukari Sakiyama, Hironori Kawakami, Tsutomu Katayama, Shoji Takada

掲載誌: *Proceedings of the Natural Academy of Science of the USA (PNAS)*

<イメージ図>

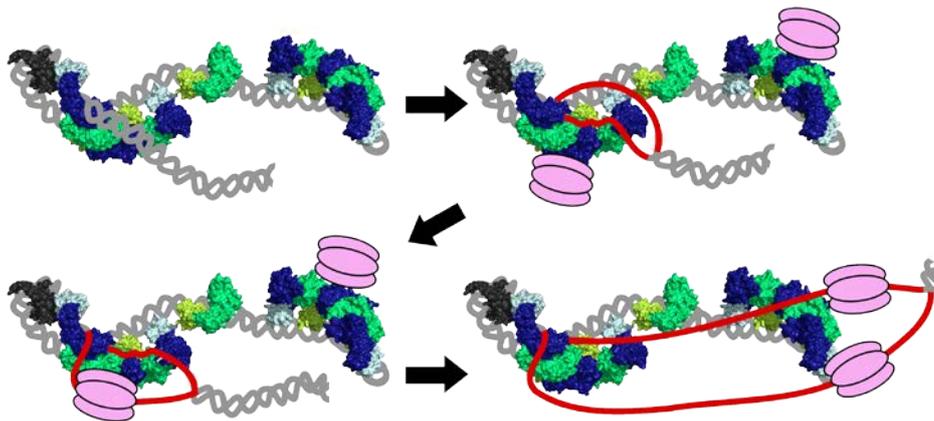


図2:複製開始起点の2重鎖DNAの開裂過程モデル 1)複製開始起点にDnaAタンパク質が集積しDNAを変形する(左上) 2)2重鎖DNAの開裂を左側のDnaA5量体が助ける(右上)。3)ヘリカーゼ(ピンク)が一方の一本鎖DNAに搭載され、開裂部分を広げる(左下)。4)もう一方の一本鎖DNAにもヘリカーゼが搭載され、複製開始の準備が整う(右下)。