

新たな染色体分配因子の運動と機能の分子機構解析



かた やま つとむ
片 山 勉

大腸菌の細胞周期では、染色体の複製と分配のプロセスは同時進行する。染色体の複製起点においては、染色体上を両方向に進む1対の姉妹複製装置(複製フォーク)が形成される。姉妹複製フォークは、細胞中央で形成され、DNA複製反応を進めながら一時的に共局在している。しばらくして、これらは分離して、それぞれが両極方向へ運搬されて、クォーター部位(細胞長の4分の1および4分の3の位置)に行き着く。姉妹複製フォークで生じた新生DNAも一旦共局在して、順次、両極方向へ運搬され、クォーター部位で凝集される。しかしながら、未だに、姉妹複製フォーク(新生DNA)の共局在の分子機構や意義、および、新生DNA鎖の運搬・凝縮の分子機構はほとんどわかっていない。関連因子もSMC-fold蛋白質MukB等、ごく少数しか明らかになっていない。

代表者は、DNAポリメラーゼのクランプ・サブユニット(DNA結合因子)の相互作用因子の網羅的探索を進めた結果、機能未知の新たな蛋白質因子を発見した。その後の数年間の研究の結果に基づき、この因子をCrfC(Colocalization of the replication fork DNA by the clamps)と命名した。CrfC蛋白質はクランプ結合モチーフ(CBM)をもつ、運動蛋白質ダイナミンの新奇なホモログである。精製CrfCは多量体を形成し、CBM依存的にクランプと結合した。また、CrfCは、細胞中央の複製フォーク、および、姉妹染色体DNAが凝集する

クォーター部位の両方に局在することもわかった。

クランプ結合部位が変異したCrfCは、複製フォークとの共局在が欠損し、同時に、姉妹複製フォークの共局在と姉妹染色体DNAの均等分配も阻害された。クランプは、岡崎フラグメント合成後のDNA鎖に残留するので、CrfCはDNAに残留したクランプとの結合に依存して新生DNA領域どおしを接着していることが考えられる。

真核生物のダイナミンは、膜上で多量体化してリング形成し、GTP加水分解により収縮して膜分裂を進める。一方、原核生物でのダイナミンホモログの機能はほとんど不明であった。CrfCでは典型的なダイナミンがもつ膜相互作用部位が欠失している一方で、GTP結合と加水分解の制御領域はよく保存されている。

以上を含む多くの結果から、代表者は、まず、CrfCは、細胞中央での姉妹複製フォークの共局在のため直接機能していると考えている。さらに、クォーター部位では、DNAの運搬と凝縮に働いているという仮説を立てている。本研究では、CrfCの基盤的分子機構を解明するため、CrfCの各ドメインの機能構造、CrfC多量体の形成(重合)・解離(脱重合)の制御にキーとなる分子機構、DNAとの高次複合体の形成機構等を解析し、さらにCrfCと相互作用する因子の網羅的探索を計画的に進める。

研究のキーワード：大腸菌， DNAポリメラーゼ， ダイナミンホモログ， DNA接着， 染色体分配
研究室HPのURL： <http://bunsei.phar.kyushu-u.ac.jp>