

ゲノムスケールの DNA 設計・合成による細胞制御技術の創出
2019 年度採択研究者

2020 年度 年次報告書

寺川 剛

京都大学 大学院理学研究科
助教

DNA カーテンによるエピゲノム修飾継承の一分子計測

§ 1. 研究成果の概要

本研究の目的は、複製フォークの通過に伴って解離したヒストンタンパク質を、一分子蛍光顕微鏡観察することである。その観察によって、エピゲノム修飾の継承のための最初のステップであるヒストンリサイクルの分子機構を探究する。申請者らはこれまでに、複製装置を構成する 18 種類のタンパク質の精製を終えた。また、それらのうち Orc1-6、Mcm2-7、Cdc6 については、試験管内での活性測定を行い、活性を有していることを確認した。また、ヒストンタンパク質 (H3、H4、H2A、H2B) の精製を終え、さらに、ARS-1 配列を λ ファージのゲノム DNA にクローニングした。そして、ヒストンタンパク質と λ ファージのゲノム DNA を用いてヌクレオソームを再構成した。ガラス基板上にそれらのヌクレオソームを固定し、蛍光標識して、蛍光顕微鏡観察すると、DNA 上に多数のヌクレオソームが数珠つなぎになっている様子を観察することができた。次年度以降は、残り 15 種類のタンパク質の活性測定を行い、それらが活性を有していることを確認する。それらのタンパク質を、ヌクレオソームを形成した DNA 上にロードして、ヒストンリサイクルを一分子蛍光顕微鏡観察する。

申請者らは、領域内共同研究において、再構成されたヌクレオソーム DNA を、精製タンパク質を用いて複製し、複製後にヌクレオソームを形成している DNA 配列の位置を一塩基対の解像度で特定することによって、ヒストンリサイクルの分子機構を明らかにすることを目指している。これまでの研究で、ヌクレオソームを再構成した DNA を複製装置で複製すると、複製された DNA 鎖上にヌクレオソームが構成されることがわかった。また、ナノポアシーケンスでヌクレオソームの位置を調べると、もとの位置のヌクレオソームが解離していることが示唆された。

【代表的な原著論文情報】

- 1) “DNA translocase repositions a nucleosome by the lane-switch mechanism”, bioRxiv, 431322, 2021
- 2) ”Modeling of DNA binding to the condensin hinge domain using molecular dynamics simulations guided by atomic force microscopy”, bioRxiv, 432963, 2021