

研究成果報告書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) AB		DNA 修復機構の高精度 1 分子解析			
研究テーマ (欧文) AZ		Single-molecule analysis of DNA repair mechanisms			
研究氏 代表名 表名 者	カカナ CC	姓)ヨコタ	名)ヒロアキ	研究期間 B	2010 ~ 2012 年
	漢字 CB	横田	浩章	報告年度 YR	2012 年
	ローマ字 CZ	Yokota	Hiroaki	研究機関名	京都大学
研究代表者 CD 所属機関・職名		横田浩章 京都大学物質・細胞統合システム拠点・講師			
概要 EA (600 字~800 字程度にまとめてください。)					
<p>地球上の生物にとって DNA 複製・修復・組換えは、種の遺伝的連続性と多様性を保証するための根源的な分子機構である。特にゲノムの安定性を保つには、厳密な DNA 複製機構に加えて、DNA に絶え間なく生じる様々な偶発的損傷を修復する機構が必要である。DNA 二重鎖ではそれぞれの鎖が互いに相手の塩基配列のバックアップとして機能しており、特に高頻度で発生する塩基損傷を対象とする除去修復機構においては、損傷を受けた DNA 側の一部を取り除いた上で他方の鎖を鋳型にして再合成を行うことで信頼性の高い修復を実現している。除去修復機構は原核生物から真核生物まで広く保存されており、その欠損は発がん、神経変性、早期老化など、様々な病態の発現につながる。これまで、除去修復機構に関与する数々のタンパク質が同定され、詳細な生化学的解析に基づいて反応機構のモデルが提唱されている。一方、様々なタンパク質分子が実際にどのように相互作用しながら、長大なゲノム DNA に発生した損傷を効率よく、かつ確実に見つけ出して修復するのか、そのダイナミクスについては不明な点が多く残されている。</p> <p>DNA 修復における最も根本的な問題の一つは、修復タンパク質が圧倒的過剰に存在する非損傷 DNA の中から損傷部位をどのように見つけ出すかという点である。そこで本研究では、研究代表者のもつ DNA-タンパク質間相互作用の 1 分子測定技術を礎に、ヒトのヌクレオチド除去修復で DNA 損傷認識段階に関与する XPC 複合体 (XPC-RAD23) に注目し、半導体超微粒子 (Qdot) で蛍光標識して、そのタンパク質 1 分子の DNA 上のダイナミクスを直接高精度で計測できる顕微鏡を用いて明らかにすることを目的とした。</p> <p>研究期間中に、ガラス基板の影響を受けない長い 1 本の DNA (λDNA) 上でタンパク質 1 分子が観察できる系を開発し、XPC 複合体が損傷 DNA に高いアフィニティで結合することを蛍光 1 分子イメージングできることを確認した。また、XPC 複合体が損傷のない DNA 上で 1 次元自由拡散していることを明らかにし、拡散係数の見積もりから、XPC 複合体は、DNA 上を DNA の二重らせん構造を忠実にスキャンしながら移動するだけでなく、短距離ホッピングしながら移動することを示唆する結果を得た。XPC 複合体は、この移動機構を使って DNA 上の損傷部位を素早く見つけ出しているものと考えられる。</p>					
キーワード FA	DNA 修復	DNA 損傷認識	1 分子計測		

(以下は記入しないでください。)

助成財団コード TA					研究課題番号 AA								
研究機関番号 AC					シート番号								

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）									
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	~	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	~	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	~	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
図書	著者名 ^{HA}	Hiroaki Yokota							
	書名 ^{HC}	Protein Interactions							
	出版者 ^{HB}	InTech	発行年 ^{HD}	2	0	1	2	総ページ ^{HE}	20
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	

欧文概要 ^{EZ}

Nucleotide excision repair (NER) is a versatile DNA repair mechanism, which can eliminate various DNA lesions. In humans, hereditary defects in NER are associated with several autosomal recessive disorders like xeroderma pigmentosum (XP), which is clinically characterized by cutaneous hypersensitivity to sunlight exposure and a marked predisposition to skin cancer. In mammalian global genome NER, XPC protein complex (XPC-RAD23) is responsible for damage recognition. Although the XPC complex seems to bind preferably to DNA lesions, it is unclear how the complex discriminates base lesions scattered throughout the genome from a vast excess of normal bases. In this study, we performed single-molecule direct visualization of the complex on DNA to address this issue.

We labeled the XPC complex with a Qdot, a semiconductor nanoparticle that emits bright fluorescence, and developed a platform that allows us to image single-molecule dynamics of the complex on λ DNA. Using the microscope, we succeeded in imaging single-molecule XPC complex that preferably bound to DNA lesions. We then found that the complex performed one-dimensional free diffusion on undamaged λ DNA. By analyzing the diffusion constant, we conclude that the XPC complex moves on DNA by hopping as well as scanning. This result indicates that the XPC complex uses hops for efficient search of DNA lesions.