

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		酸化損傷 DNA に対する塩基除去修復機構の構造学的基盤			
研究テーマ (欧文) AZ		Structural basis for base excision repair of oxidative DNA damage			
研究氏 代 表 名 者	カタカナ CC	姓)ナカムラ	名)テルヤ	研究期間 B	2013～ 2015年
	漢字 CB	中村	照也	報告年度 YR	2015年
	ローマ字 CZ	Nakamura	Teruya	研究機関名	熊本大学
研究代表者 CD 所属機関・職名		熊本大学大学院生命科学研究部・助教			
概要 EA (600 字～800 字程度にまとめてください。) 遺伝情報を担う DNA は、紫外線、放射線、化学物質や活性酸素種によって容易に損傷を受ける。生命活動において産生される活性酸素種は、DNA の酸化損傷を引き起こす。酸化損傷 DNA は、突然変異、ひいてはがんや老化の原因となるが、生物はこのような損傷に対する DNA 修復機構を有している。本研究では、酸化損傷 DNA に働く DNA 修復酵素に注目し、X 線結晶構造解析を行うことによって、DNA 修復酵素が行う塩基除去修復機構の構造学的基盤を明らかにすることを目的として研究を行った。 DNA 修復酵素は、遺伝子組み換え体を用いて発現させ、種々のカラムクロマトグラフィーにより精製し、SDS-PAGE において単一バンドとなる純度で大量調製した。DNA との複合体は、ゲルろ過カラムクロマトグラフィーと動的光散乱を用いて評価し、結晶化に適した DNA 修復酵素-DNA 複合体のサンプルを得た。結晶化スクリーニングはナノリッター分注システム mosquito を用いて行い、微結晶を得た。さらに、この条件を中心にマイクロリッタースケールで結晶化条件の最適化を行い、X線回折実験に適した大きさの結晶を得た。X線回折実験は、大型放射光施設 SPring-8 および Photon Factory にて行い、DNA 修復酵素-DNA 複合体の結晶構造を決定した。さらに、DNA 修復複合体の調製も行い、mosquito を用いた結晶化スクリーニングにおいて微結晶を得た。					
キーワード FA		DNA 修復	構造生物学		

(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}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	
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}

Oxidative DNA damage, which is generated by reactive oxygen species, causes mutation, cancer and aging, and living organisms have DNA repair mechanisms against the oxidative damage. In this study, we performed X-ray crystallographic analysis of a DNA repair protein in order to understand the structural basis of the oxidative DNA repair mechanism.

Recombinant DNA repair protein was expressed and purified by column chromatography. Formation of the DNA repair protein-DNA complex was verified by size exclusion chromatography and dynamic light scattering. We obtained crystals of the complex by crystallization screening using a nanoliter dispenser mosquito, collected X-ray diffraction data at SPring-8 and Photon factory, and determined the crystal structure.