

様式 C - 7 - 1

## 平成24年度科学研究費助成事業（科学研究費補助金）実績報告書（研究実績報告書）

1. 機関番号 

1	4	6	0	3
---	---	---	---	---

 2. 研究機関名 奈良先端科学技術大学院大学
3. 研究種目名 新学術領域研究（研究領域提案型） 4. 補助事業期間 平成23年度～平成24年度
5. 課題番号 

2	3	1	3	1	5	1	8
---	---	---	---	---	---	---	---
6. 研究課題 DNA損傷部位で停止した転写装置が及ぼす複製フォークの進行阻害とその回復機構

## 7. 研究代表者

研究者番号	研究代表者名	所属部局名	職名
20199649	マキ ヒサジ 真木 寿治	バイオサイエンス研究科	教授

## 8. 研究分担者

研究者番号	研究分担者名	所属研究機関名・部局名	職名

## 9. 研究実績の概要

本研究の目的は、DNA損傷により停止した転写装置がDNA複製フォークの進行にどのような影響を与えるのかを分子レベルで解明し、転写装置により進行が阻害されたDNA複製がどのようにして回復するのかを明らかにすることである。そのために、申請者らが開発した*in vitro* oriCプラスミドDNA複製系での複製フォークの進行をモニターする実験系を基盤として、特定の部位にDNA損傷を導入した鋳型DNAを用いることにより損傷部位で停止した大腸菌RNAポリメラーゼによる複製フォークの進行阻害の状況を詳細に解析する。さらに、停止した転写装置を鋳型DNAから排除する働きを持つMfdタンパク質による複製の再開の検証、および遺伝学的な研究から複製フォークの進行と転写の進行をモジュレートすると考えられている一群のDNAヘリカーゼ(DinG, Rep, UvrD)の働きを生化学的に解析する。本年度は、*in vitro* oriCプラスミドDNA複製系に用いる特定の部位にDNA損傷を導入した鋳型DNAの新規の調製法の確立と、それにより得られた鋳型DNAを用いた複製フォークの進行の阻害および回復の過程の解析を中心に研究を進めた。DNA損傷としてはベンツピレンがグアニンに付加したものを、それを含むオリゴDNAをoriCプラスミドに制限酵素とDNAリガーゼの反応で組み込み、超遠心分離機とゲル電気泳動により精製して、調製法を確立した。oriCプラスミドDNA複製系でリーディング鎖上の損傷により複製フォークが阻害すること、さらにDNAポリメラーゼIVの添加により複製フォークが再開することを生化学的に検出・解析することに成功した。

## 10. キーワード

(1) 遺伝的不安定性

(2) DNA複製

(3) 複製フォーク

(4) 遺伝学

(5)

(6)

(7)

(8)

## 11. 現在までの達成度

(区分)

(理由)

24年度が最終年度であるため、記入しない。

## 12. 今後の研究の推進方策

(今後の推進方策)

24年度が最終年度であるため、記入しない。

## 13.研究発表(平成24年度の研究成果)

〔雑誌論文〕計(3)件 うち査読付論文 計(3)件

著者名	論文標題			
Mio Ikeda	Quick replication fork stop by overproduction of Escherichia coli DinB produces non-proliferative cells with an aberrant chromosome.			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁
Genes and Genetic Systems	有	87	2 0 1 2	229-231
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)				
<a href="http://dx.doi.org/10.1266/ggs.87.221">http://dx.doi.org/10.1266/ggs.87.221</a>				

著者名	論文標題			
Tatsuya Mori	Escherichia coli DinB inhibits replication fork progression without significantly inducing the SOS response.			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁
Genes and Genetic Systems	有	87	2 0 1 2	75-87
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)				
<a href="http://dx.doi.org/10.1266/ggs.87.75">http://dx.doi.org/10.1266/ggs.87.75</a>				

著者名	論文標題			
Asako Furukohri	Interaction between Escherichia coli DNA polymerase IV and the single-stranded DNA-binding protein is required for DNA synthesis on SSB-coated DNA.			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁
Nucleic Acids Research	有	40	2 0 1 2	6039-6048
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)				
<a href="http://dx.doi.org/10.1093/nar/gks264">10.1093/nar/gks264</a>				

〔学会発表〕計(8)件 うち招待講演 計(3)件

発表者名	発表標題	
Hisaji Maki	Superoxide Mutagenesis: An Overview of Outcome and a Possible Involvement of Glyoxal.	
学会等名	発表年月日	発表場所
U.S.-Japan DNA Repair Meeting(招待講演)	2012年04月12日	National Conference Center, Virginia, USA

発表者名	発表標題	
Hisaji Maki	Hyper-processive and slower DNA chain elongation catalysed by dnaE173 DNA polymerase III holoenzyme.	
学会等名	発表年月日	発表場所
Cantoblanco Workshop on "Polymerases involved in DNA replication, repair and mutagenesis. From basic knowledge to biotechnological applications"(招待講演)	2012年06月05日	Centro de Biología Molecular Severo Ochoa, Madrid, Spain

発表者名	発表標題	
Hisaji Maki	Effects of a long inverted repeat on dynamics of Escherichia coli DNA replication fork.	
学会等名	発表年月日	発表場所
3rd Erling Seeberg Symposium(招待講演)	2012年06月22日	Trondheim and Orland, Norway

発表者名	発表標題	
池田美央	損傷乗り越えDNA合成による複製フォーク再開機構の解析	
学会等名	発表年月日	発表場所
日本遺伝学会第84回大会	2012年09月25日	九州大学医学部、福岡

発表者名	発表標題	
出水紀行	大腸菌dinB遺伝子の遺伝的ネットワークの探索	
学会等名	発表年月日	発表場所
日本遺伝学会第84回大会	2012年09月25日	九州大学医学部、福岡

発表者名	発表標題	
Pey Jiun Lai	Effects of inverted repeats on DNA replication fork: biochemical studies with a reconstituted oriC plasmid replication in vitro.	
学会等名	発表年月日	発表場所
日本遺伝学会第84回大会	2012年09月25日	九州大学医学部、福岡

発表者名	発表標題	
Hang Phuong Le	Molecular mechanisms underlying the genetic instability of CAG CTG repeats in Escherichia coli.	
学会等名	発表年月日	発表場所
日本遺伝学会第84回大会	2012年09月25日	九州大学医学部、福岡

発表者名	発表標題	
上船晴香	大腸菌の生育環境の急激な変化が引き起こす突然変異の解析	
学会等名	発表年月日	発表場所
日本遺伝学会第84回大会	2012年09月26日	九州大学医学部、福岡

(図書) 計(1)件

著者名	出版社		
Hisaji Maki	Academic Press		
書名		発行年	総ページ数
DNA Polymerase III, Bacterial. In: Lennarz W.J. and Lane M.D. (eds.) The Encyclopedia of Biological Chemistry, vol. 2		2 0 1 3	3

## 14. 研究成果による産業財産権の出願・取得状況

(出願) 計(0)件

産業財産権の名称	発明者	権利者	産業財産権の種類、番号	出願年月日	国内・外国の別

(取得) 計(0)件

産業財産権の名称	発明者	権利者	産業財産権の種類、番号	取得年月日	国内・外国の別
				出願年月日	

## 15. 備考

--