

(様式 1-1)

提出日：2025 年 5 月 8 日

2024 年度 大阪大学蛋白質研究所 拠点事業

研究成果報告書

(1) 事業名（下記より該当事業名を選択し、ほかは削除してください。）

共同研究員

(2) 研究代表者

氏名：西野達哉

所属機関名・部局名・職名：東京理科大学・先進工学部生命システム工学科・教授

(3) 研究課題名（申請時に記載したものと同一課題名を記入してください。）

CENP-TWSX 複合体による DNA 認識機構解明

(4) 蛋白質研究所受入担当教員

教員名：中川 敦史（研究室名：超分子構造解析学）

(5) 研究成果の概要

*背景および目的、方法と結果について、公開して差し支えない範囲で記載。

背景と目的

細胞分裂時の染色体分配において中心的役割を担うキネトコアは、真核生物において高い保存性を持つ多タンパク質複合体である。その中でも、CENP-TW および CENP-SX はヒストンフォールド構造を有する複合体であり、DNA との結合を介してセントロメア特異的クロマチン形成に寄与している。特に、CENP-SX の C 末端には天然変性領域が存在し、この領域が DNA との結合様式に関与している可能性がある。本研究では、CENP-TWSX 複合体と DNA との相互作用機構を、生化学的および構造生物学的手法により明らかにすることを目的とした。

方法と結果

ヒトおよびニワトリ由来の CENP-TW および CENP-SX を組換えタンパク質として発現・精製し、Electrophoretic Mobility Shift Assay (EMSA) により DNA との結合性を解析した。CENP-SX は DNA と 3:1 の比で結合することが示され、DNA の長さに応じて複数の結合ユニットが形成された。また、CENP-SX の C 末端を欠失させた変異体では DNA 結合能が顕著に低下し、この領域が結合に重要であることが示唆された。

さらに、DNA 結合複合体の結晶化に取り組み、ニワトリ CENP-SX-DNA 複合体において、従来可視化できなかった DNA の電子密度が確認され、新たな分子モデルの構築に成功した。一方、ヒト由来複合体では低分解能の回折データが得られた。

また、FANCM-MHF 複合体についても、安定性向上を目的とした架橋変異体の設計と精製を行い、DNA 結合実験により複合体構造の違いが DNA との結合様式に影響を与えることを確認した。