

## 様式3

## 神戸大学バイオシグナル総合研究センター共同利用研究報告書

平成 29 年 4 月 27 日

神戸大学バイオシグナル総合研究センター長 殿

所属機関・部局名 早稲田大学 先進理工学部 電気・情報生命工学科  
職 名 助手  
研究代表者名 小林 航

下記のとおり平成 28 年度の共同利用研究成果を報告します。

## 記

(課題番号:282006)

1. 共同利用研究 課題名	再構成クロマチンを用いた損傷 DNA 認識機構		
2. 共同利用研究 目的	本研究では、神戸大学バイオシグナル総合研究センターが有する、真核生物DNA 損傷修復タンパク質の調製法および解析技術と、早稲田大学が確立したクロマチン 再構成系とを組み合わせることで、クロマチンでの損傷DNA の修復機構の解明研究 を共同で行うことを目的とする。		
3. 共同利用研究 期間	平成 28 年 7 月 1 日 ~ 平成 29 年 3 月 31 日		
4. 共同利用研究組織			
氏 名	所属部局等	職名等	役割分担
(研究代表者) 小林 航	早稲田大学 先進理工学部 電気・情報生命工学科	助手	タンパク質の精製、生化学的解析、細胞 生物学的解析、構造生物学的解析
(分担研究者) 胡桃坂仁志  関根 慧	早稲田大学 理工学術院  早稲田大学 先進理工学研 究科 電気・情報生命専攻	教授  修士 2 年	構造生物学的解析  タンパク質の精製、生化学的解析、細胞 生物学的解析、構造生物学的解析
5. センター内受入研究者	研究部門・ 分野名	シグナル統合経路研究部門 ゲノム機能制御研究分野	氏 名 菅澤 薫

※ 次の6, 7, 8の項目は、枠幅を自由に変更できます。但し、6, 7, 8の項目全体では1頁に収めて下さい。

(課題番号:282006)

#### 6. 共同利用研究計画

XPC およびUV-DDB によるヌクレオソーム中の損傷DNA 認識機構を明らかにするために、部位特異的に損傷塩基を導入したヌクレオソームを試験管内で再構成する。まず、ヒストンタンパク質(H2A, H2B, H3, H4)をリコンビナントタンパク質として精製し、ヒストン8 量体を再構成する。再構成したヒストン8 量体と損傷塩基を含むDNA を用いて、塩透析法によりヌクレオソームを再構成する。その後、再構成した損傷DNA を含むヌクレオソームに対するXPC およびUV-DDB の結合をゲルシフトアッセイ法により解析する。さらに、ヒストン翻訳後修飾(ユビキチン化、メチル化、アセチル化等)や、ヒストンバリエントを導入したヌクレオソームを再構成し、それらのヒストン翻訳後修飾やバリエントが、XPCとUV-DDB のヌクレオソームへの結合に与える影響について解析する。本研究を遂行するにあたり、XPC とUV-DDBの調製は神戸大学バイオシグナル総合研究センターにて執り行い、機能解析および構造解析研究は神戸大学および早稲田大学にて行う計画である。

#### 7. 共同利用研究の成果

XPC によるヌクレオソーム中の損傷 DNA 認識機構を明らかにするために、部位特異的に損傷塩基を配置させたヌクレオソームを早稲田大学にて再構成した。再構成したヌクレオソームと神戸大学バイオシグナル総合研究センターにおいて調製した XPC を用いて、XPC の損傷ヌクレオソームへの結合をゲルシフトアッセイ法により評価した。その結果、XPC は非損傷のヌクレオソームと比較して、損傷塩基を導入したヌクレオソームに優先的に結合することを明らかにした。今後、ヒストン表面に対して損傷塩基を内向きまたは外向きに導入したヌクレオソームを再構成し、XPC によるヌクレオソーム中の損傷塩基の認識機構について詳細な解析を行う。さらに、早稲田大学にて精製したリコンビナントヒストンを用いて、XPC がヒストンH3のN末端テール領域と相互作用することが明らかになった。本研究成果は、共著者として Genes to Cells 誌に発表された。

#### 8. 共同利用研究成果の学会発表・研究論文発表状況

(本センターの担当教員の氏名の記載、又はこの共同利用研究に基づくとの記載のある論文等を記載して下さい。なお、論文の場合は、別刷りを1部提出してください。)

神戸バイオシグナル総合研究センターの菅澤薫教授との共著論文として、以下の研究論文を発表した。

Kakumu, E., Nakanishi, S., Shiratori, H.M., Kato, A., Kobayashi, W., Machida, S., Yasuda, T., Adachi, N., Saito, N., Ikura, T., Kurumizaka, H., Kimura, H., Yokoi, M., Sakai, W., and Sugasawa, K. (2017) Xeroderma pigmentosum group C protein interacts with histones: regulation by acetylated states of histone H3. Genes Cells. 22, 310-327.

#### 9. 共同利用研究に関連した受賞、博士学位論文の取得、大型研究プロジェクトや競争的資金の獲得等がありましたらご記入ください。