



分子の指紋捜査に基づく核酸結合タンパク質の探索

基礎工学研究科 物質創成専攻

准教授 山元 淳平

<https://researchmap.jp/yamamotojunpei>


研究の概要

生体の遺伝情報を担う DNA は遺伝情報の本質であり、その情報伝達には多くの核酸結合タンパク質が直接 DNA にアクセスする必要がある。このため、核酸結合タンパク質の遺伝的欠失や変異は、さまざまな疾患の原因となる。本研究では、核酸に結合するタンパク質を網羅的に探索可能とする「指紋標的濃縮法」を開発し、非標準 DNA 高次構造の一つであるシトシン四重鎖に結合するタンパク質の探索を行った。得られた候補タンパク質の性質解析を行った結果、核小体構成タンパク質の一つであるヌクレオリンが上記核酸に結合し、その構造を変化させることを新たに見出した。

研究の背景と結果

生体の遺伝情報を担う DNA は、標準的な二重らせん構造のほかに、さまざまな特殊高次構造を形成することが知られている。ゲノム中に生じる非標準 DNA 構造は、転写や複製など多様な生体プロセスの調節に関与しており、これらの構造を認識するタンパク質因子がその初期段階を担うことから、その同定は重要な研究課題となっている。

我々は、核酸結合タンパク質と核酸の結合特異性に着目し、ターゲット核酸への近接履歴をタンパク質化学修飾として残すプローブ分子を調製した。このプローブ核酸を細胞核抽出物と反応させ、プローブ分子と近接した履歴、すなわち「分子の指紋」を有するタンパク質を選択的に濃縮し、質量分析によって同定する指紋標的濃縮法を開発した。本法を非標準核酸高次構造の一つであるシトシン四重鎖 (i-motif) に適用した結果、既知の i-motif 結合タンパク質に加え、未知の結合候補タンパク質群を得ることに成功した。

得られた候補の中でも、核小体構成タンパク質として知られるヌクレオリンに着目し、遺伝子組換えヌクレオリンを用いた生化学解析を行った。その結果、ヌクレオリンが i-motif DNA 構造に結合し、さらにその構造を緩める機能を有することを明らかにした。また、この作用はヌクレオリンが持つ RNA 結合ドメインに由来することを同定した。

ヌクレオリンが局在する核小体には、タンパク質合成を担うリボソーム遺伝子をコードするリボソーム DNA が存在する。リボソーム DNA は非標準 DNA 高次構造形成のホットスポットであることが知られており、ヌクレオリンが DNA 高次構造の形成および解除を介して、リボソーム遺伝子発現の制御に寄与している可能性が示唆された。

研究の意義と将来展望

本研究では、指紋標的濃縮法の原理実証として非標準 DNA 高次構造に結合するタンパク質群の探索をターゲットとしたが、本法は非標準 DNA に限らず、さまざまな核酸に適用可能である点に大きな利点がある。本研究で開発した試薬は、DNA 断片であるオリゴヌクレオチドのみならず、核酸医薬や PCR 産物にも導入が可能である。指紋標的濃縮法に基づく疾患の原因となりうる特殊 DNA 構造を認識するタンパク質群の探索は新規創薬シーズの開拓につながるだけでなく、本手法は核酸医薬の動態解析や細胞内相互作用タンパク質群の解析においても有力な手段の一つとして活用できることが期待される。

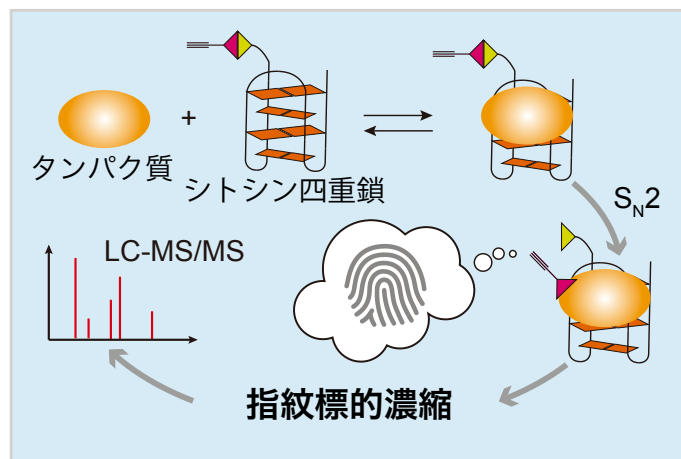


図1：指紋標的濃縮法による核酸結合タンパク質探索

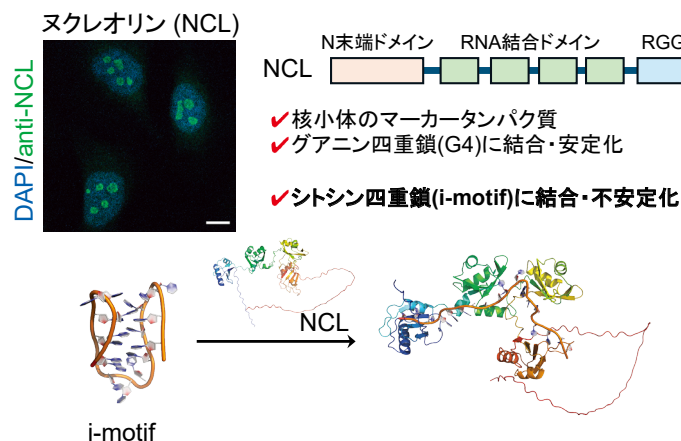


図2：シトシン四重鎖結合タンパク質として同定されたヌクレオリンの性質

特許

論文

参考URL

キーワード

Ban, Yuki; Ando, Yuka; Terai, Yuma et al. Profiling of i-motif-binding proteins reveals functional roles of nucleolin in regulation of high-order DNA structures. *Nucleic Acids Research*. 2024, 52(22), 13530-13543. doi: 10.1093/nar/gkae1001

機能生物学、ケミカルバイオロジー、プロテオーム解析、核酸結合タンパク質