

研究区分	教員特別研究推進 地域振興
------	---------------

研究テーマ	DNA 損傷チェックポイントにおける 9-1-1 と RHINO の相互作用のシミュレーション解析				
研究組織	代 表 者	所属・職名	薬学部・助教	氏名	湧上 壮太郎
	研究分担者	所属・職名		氏名	
		所属・職名		氏名	
		所属・職名		氏名	
	発 表 者	所属・職名	薬学部・助教	氏名	湧上 壮太郎

講演題目
DNA 損傷チェックポイントにおける 9-1-1 と RHINO の相互作用のシミュレーション解析
研究の目的、成果及び今後の展望
【背景】DNA に損傷が生じると、DNA クランプである RAD9-HUS1-RAD1 (9-1-1) 複合体が損傷部位に結合し、DNA を修復するための DNA 損傷チェックポイントが活性化される。9-1-1 と相互作用するタンパク質である RHINO は、このチェックポイントを制御する ATR 経路の活性化に必須であることが知られている。がん細胞では ATR 経路が亢進しているため、無秩序な増殖が起こる。現在までに、RHINO の 2 つのペプチド断片、RHINO(45-64) と RHINO(88-99)、それぞれが 9-1-1 の RAD1 と RAD9 に結合した構造が決定されているが、RHINO の 2 つのペプチド断片を繋ぐ部分の立体構造は未解明であり、DNA 損傷チェックポイントの活性化の詳細な分子機構も明らかとなっていない。 【目的】本研究では、DNA 損傷チェックポイントの促進に必須である 9-1-1 と RHINO のタンパク質間相互作用に着目し、9-1-1-RHINO 複合体の立体構造モデリングと全原子分子動力学 (MD) シミュレーションによって、複合体の形成・安定化機構の解明を目指す。RHINO ペプチド断片が 9-1-1 に結合した 2 つの立体構造をもとに、RHINO(45-99)の欠損部分をホモロジーモデリングすることによって、9-1-1-RHINO 複合体の立体構造を作成する。また、得られた構造を用いて、MD シミュレーションによる解析を実行し、9-1-1 と RHINO の相互作用を同定・解明する。 【結果】9-1-1 に RHINO ペプチド断片が結合した 2 つの構造を用いたホモロジーモデリングによって、RHINO(45-99)が 9-1-1 の RAD1 と RAD9 に結合し、かつ、リング内部を通過する 9-1-1-RHINO 複合体の構造を作成することができた (図)。得られたモデリング構造を用いて MD シミュレーションを実行したところ、RHINO は 9-1-1 から解離することがなく、結合が安定に維持されており、モデリング構造の妥当性を確認することができた。RHINO の結合による 9-1-1 への影響を調べるために、RHINO が結合していない 9-1-1 の MD シミュレーションを実行し、9-1-1-RHINO 複合体の結果と比較したところ、RAD9 には有意な揺らぎの変化は見られなかったが、HUS1 には揺らぎが増大する部分が、RAD1 には揺らぎが減少する部分があることが判明した。また、RHINO のリング内部を通過する部分は大きな揺らぎが予想されたものの、実際には大きく揺らいでいないことがわかった。この原因を探るために、9-1-1 と RHINO の相互作用を解析したところ、RAD1 と RHINO の間に水素結合が形成されることが明らかとなった。今後は、9-1-1 と RHINO の相互作用解析を継続するとともに、静岡県内の研究機関との共同研究へと発展させたい。

