

染色体 DNA の複製開始をレスキューするメカニズム

～多様な障害を乗り越えて DNA 複製や細胞増殖を行わせる頑強性の基盤～

ポイント

- ① 染色体 DNA の複製開始プロセスでは多様な複合体がダイナミックに形成される一方、それらの形成が阻害された場合の対応機構は不明だった。
- ② 今回、大腸菌において複製開始プロセスにおける複合体形成が阻害された場合に働くレスキュー機構が分子レベルで複数解明された。
- ③ DNA 複製や細胞増殖の頑強性や恒常性を支える分子機構への理解が深まり、細胞増殖の制御機構や制御薬剤の研究に大きく貢献することが期待される。

概要

染色体の複製開始においては、複数のタンパク質により高次で動的な複合体が複製起点 DNA 領域で形成されます。しかしながら、細胞内で何らかの障害が生じて、このような複合体形成プロセスが阻害された場合（複製開始ストレス）、細胞がどのように対応するかについては、よく理解されていません。

これまで九州大学大学院薬学研究院分子生物薬学分野では、大腸菌の染色体 DNA 複製起点 (*oriC*) で形成される高次複合体とその動的メカニズムを詳細に解明してきました。まず、複製起点 *oriC* では複製開始因子である DnaA タンパク質(※1)が 2 つの複合体を形成します (図 1:「正常」)。これらの DnaA 複合体は、直接結合により DnaB ヘリカーゼ(※2)を複製起点に呼び込みます。*oriC* DNA の一部が一本鎖化 (開裂) し、2 分子の DnaB ヘリカーゼが DnaA 複合体との動的な相互作用を介して、それぞれの一本鎖 DNA に装着します (図 1:「正常」)。これらの DnaB ヘリカーゼは DNA 上を双方向に進行し DNA を一本鎖化していき、そこに DNA 合成酵素が呼び込まれ DNA 複製が起こります。このように明らかになってきた正常なプロセスにおける複製開始の原理機構を基盤にして、複製開始ストレスへの対応機構の謎に挑むことができるようになりました。

まず、当分野では、DnaA 複合体の形成が部分的に阻害された場合の対応機構について解明を進めました (Sakiyama et al., 2022 年)。ここでは *oriC* DNA の一本鎖化が不安定になり DnaB ヘリカーゼの一本鎖 DNA 装着が阻害されますが、この時、*oriC* に隣接している AT 配列クラスターが DnaB ヘリカーゼ装着をレスキューすることが明らかになりました。AT 配列クラスターは熱運動により一本鎖化しやすい性質があり、DnaB ヘリカーゼ装着を促進できます。

今回は、DnaA 複合体と DnaB ヘリカーゼの相互作用が阻害された場合の対応機構を初めて解明しました。この場合は、一本鎖 DNA や DnaB ヘリカーゼと相互作用する PriC タンパク質(※3)が複製開始阻害をレスキューすることが明らかになりました。PriC タンパク質は、DnaB ヘリカーゼと DnaA 複合体との相互作用に依存しない機構によって、DnaB ヘリカーゼを *oriC* の一本鎖 DNA 領域に装着させます (図 1)。このような PriC によるバイパス機構は、DnaA 複合体の形成が部分的に阻害された場合でも DnaB ヘリカーゼ装着をレスキューできました。

これらの成果から、大腸菌は、複製開始ストレスに対応する複数の応答機構 (バイパス) をもっており、多様な障害を乗り越えて複製開始できる頑強性を築いていることが明らかになりました。これは細菌の増殖のホメオスタシス (恒常性・安定性) 機構の理解を深めるだけでなく、真核細胞の増殖制御機構や、DNA 複製を阻害する抗菌剤や抗がん剤の開発や作用機序の理解においても重要な基盤となるものです。

なお本研究成果の論文公開にあたっては、コペンハーゲン大学 Anders Løbner-Olesen 博士による紹介記事が同時に掲載されました。ここでは PriC による複製開始レスキュー機構の原理が細菌界を超える普遍性をもつ可能性や細菌のウイルス耐性に寄与する可能性も指摘されています。

本研究成果は米国科学誌「eLife」に 2025 年 5 月 29 日 (木) にオンライン公開されました。

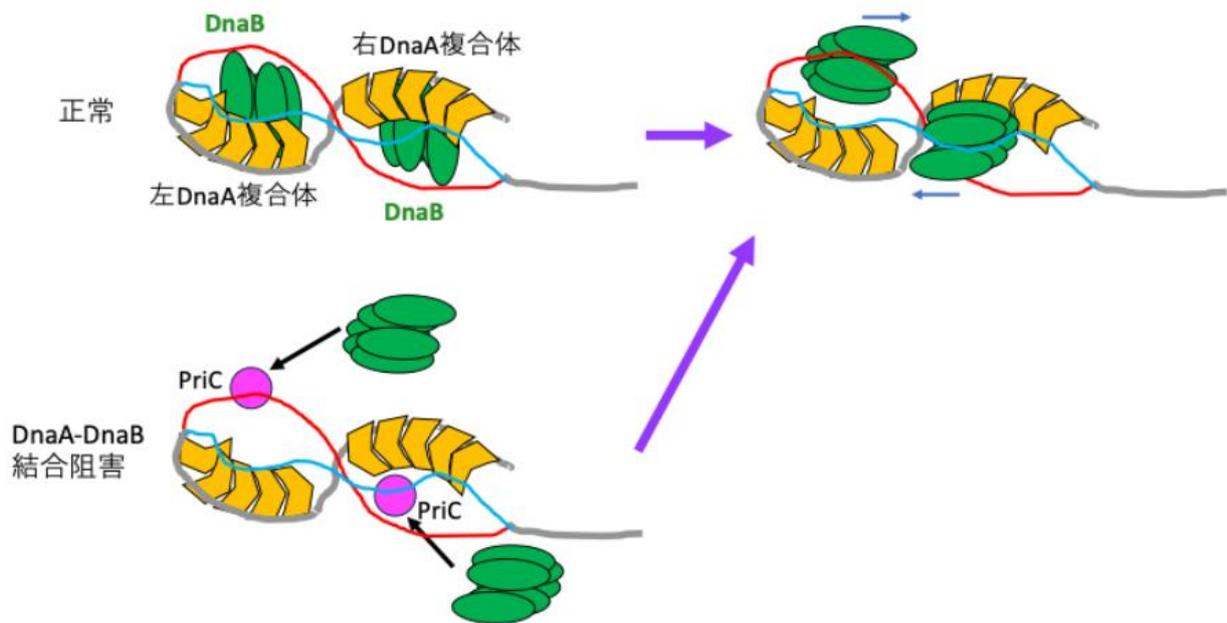


図1 複製起点 *oriC*における複製開始機構（正常）と阻害時のレスキュー機構

*oriC*では2つのDnaA複合体が形成され、DNAを局部的に一本鎖化する（青と赤のラインは一本鎖DNAを示す）。正常なプロセスでは、2分子のDnaBヘリカーゼ（ホモ六量体）がDnaA複合体との直接結合を介して一本鎖DNAに装着する。PriCは、DnaA-DnaB結合を介さないバイパス経路を供給する。簡略化のため、DNA屈曲因子（IHF/HU）やヘリカーゼローダー（DnaC）等を割愛した（【関連研究の解説】参照）。

【研究の背景と経緯】

染色体の複製開始には、複製起点DNAにおいて複数のタンパク質が高次で動的な複合体を形成することが必要です。しかし、細胞内での何らかの障害により、このような複合体形成プロセスが阻害された場合（複製開始ストレス）、対応してどのような反応が引き起こされるのか、よく理解されていません。

これまで九州大学大学院薬学研究院分子生物薬学分野の片山 勉 教授、尾崎 省吾 准教授らの研究グループは、大腸菌の染色体DNA複製起点（*oriC*）で形成される高次複合体とその動的メカニズムを詳細に解明してきました。まず、複製起点 *oriC*では複製開始因子であるDnaAタンパク質が2つの複合体を形成します（図1：「正常」）。これらのDnaA複合体は、DnaBヘリカーゼと結合して複製起点に呼び込みます。またDNA屈曲因子との協働によって *oriC*DNAが一本鎖化（開裂）し、一本鎖DNAがそれぞれのDnaA複合体に結合します。このように一本鎖DNA領域が安定化し拡張すると、2分子のDnaBヘリカーゼがDnaA複合体との動的な相互作用を介して、それぞれの一本鎖DNAに装着します（図1：「正常」）。これらのDnaBヘリカーゼは双方向にDNA上を進行しながらDNAを一本鎖化していきます。これによりDNA合成酵素が呼び込まれ、DNA複製が起こります。

このように明らかになってきた正常なプロセスにおける複製開始の原理機構を基盤にして、複製開始ストレスへの対応機構の謎に挑むことができるようになりました。そこで、まず、DnaA複合体の形成が部分的に阻害された場合の対応機構について解明を進めました(Sakiyama et al., J. Biol. Chem., 2022年)。ここでは *oriC*DNAの一本鎖化が不安定になりDnaBヘリカーゼの一本鎖DNA装着が阻害されますが、このような時、*oriC*に隣接するAT配列クラスターがDnaBヘリカーゼ装着をレスキューすることが明らかになりました。AT配列クラスターは熱運動により一本鎖化しやすい性質があり、DnaBヘリカーゼ装着を促進できます。

【研究の内容と成果】

今回は、DnaA 複合体と DnaB ヘリカーゼとの相互作用が阻害された場合の対応機構を初めて解明しました。PriC タンパク質は、一本鎖 DNA や DnaB ヘリカーゼと相互作用する機能が知られていました。新たに、私たちは上述のような複製開始ストレスに対応して、PriC タンパク質が *oriC* 領域における DnaB ヘリカーゼの一本鎖 DNA 装着をレスキューすることを明らかにしました。ここでは、DnaB ヘリカーゼが、DnaA 複合体との相互作用に依存しない機構によって、*oriC* の一本鎖 DNA 領域に装着されます (図 1)。このような PriC によるバイパス機構は、DnaA 複合体の形成が部分的に阻害された場合でも DnaB ヘリカーゼ装着をレスキューできました。

これらの成果から、大腸菌は、複製開始ストレスに対応する複数の応答機構 (バイパス) をもっており、多様な障害を乗り越えて複製開始できる頑強性を築いていることが明らかになりました。これは細菌の増殖のホメオスタシス (恒常性・安定性) 機構の理解を深めるものであるばかりでなく、真核細胞の増殖制御機構や、DNA 複製を阻害する抗菌剤や抗がん剤の開発や作用機序の理解においても重要な基盤となるものです。

なお本研究成果の論文公開にあたっては、コペンハーゲン大学 Anders Løbner-Olesen 博士らによる紹介記事が同時に掲載されました。ここでは PriC による複製開始レスキュー機構の原理が細菌 (バクテリア) 界を超える普遍性をもつ可能性や細菌のウイルス耐性に寄与する可能性も指摘されています。

【今後の展開】

まず、PriC と相互作用するタンパク質因子の解析など、より詳細なメカニズムの解明が期待されます。さらに、大腸菌以外のバクテリアや真核細胞でも同様なメカニズムがあるのか、といった謎の解明に展開することも期待されます。加えて、バクテリアのウイルス耐性や薬剤耐性における役割の解明に発展することも期待されます。

【用語解説】

(※1) DnaA タンパク質

細菌界に広く保存されている染色体 DNA 複製開始因子。真核生物界やアーキア (古細菌) 界では Orc1/Cdc6 が構造的・機能的に DnaA タンパク質に相当する。

(※2) DnaB ヘリカーゼ

細菌界に広く保存されている DNA 複製因子。ホモ六量体としてリングまたは螺旋状の複合体を形成する。複合体の中空部に一本鎖 DNA を通す形で DNA に装着する。真核生物界やアーキア (古細菌) 界では MCM 複合体が構造的・機能的に DnaB ヘリカーゼに相当する。

(※3) PriC タンパク質

175 個のアミノ酸からなる比較的小さいタンパク質ながら、一本鎖 DNA、DnaB ヘリカーゼ、SSB (一本鎖 DNA 結合タンパク質) と相互作用するなど多機能。大腸菌に感染するウイルス (ϕ x174 ファージ) の複製開始に関わる因子 (当初の命名は protein n^o) として見出された (Arai et al., 1980)。

【謝辞】

本研究は JSPS 科研費（JP17H03656, JP20H03212, JP23K27131）の助成を受けたものです。

【論文情報】

掲載誌：eLife

タイトル：Primosomal protein PriC rescues replication initiation stress by bypassing the DnaA-DnaB interaction step for DnaB helicase loading at *oriC*

著者名：Ryusei Yoshida, Kazuma Korogi, Qinfei Wu, Shogo Ozaki, Tsutomu Katayama

D O I : 10.7554/eLife.103340

【関連論文】

A back-up mechanism for replication.

Charbon G, Løbner-Olesen A.

eLife. 2025, 14: e107379. doi: 10.7554/eLife.107379.

Concerted actions of DnaA complexes with DNA-unwinding sequences within and flanking replication origin *oriC* promote DnaB helicase loading.

Sakiyama Y, Nagata M, Yoshida R, Kasho K, Ozaki S, Katayama T.

J Biol Chem. 2022, 298(6):102051. doi: 10.1016/j.jbc.2022.102051.

Replication of duplex DNA of phage phi X174 reconstituted with purified enzymes.

Arai K, Arai N, Shlomai J, Kornberg A.

Proc Natl Acad Sci U S A. 1980, 77(6):3322-6. doi: 10.1073/pnas.77.6.3322.

【関連研究の解説】

薬学研究院研究成果「DNA を折りまげて一本鎖化：バクテリアの染色体複製開始の普遍的なメカニズムの解明」（2023 年）

https://www.phar.kyushu-u.ac.jp/research/view.php?page=2&r_publ_year=&r_search=&cld=682

薬学研究院研究成果「複製開始複合体の分子機構」（2017 年）

https://www.phar.kyushu-u.ac.jp/research/view.php?page=1&r_publ_year=2017&r_search=&cld=399

九州大学研究成果「複製開始複合体の精密構造」（2016 年）

<https://www.kyushu-u.ac.jp/ja/researches/view/63>

【お問合せ先】

<研究に関すること>

九州大学大学院薬学研究院分子生物薬学分野

教授 片山 勉（カタヤマ ツトム）

准教授 尾崎 省吾 (オザキ ショウゴ)

TEL : 092-642-6641(片山) , 6643(尾崎) FAX : 092-642-6646

Mail : katayama@phar.kyushu-u.ac.jp(片山) , shogo.ozaki@phar.kyushu-u.ac.jp(尾崎)

<報道に関すること>

九州大学 広報課

TEL : 092-802-2130 FAX : 092-802-2139

Mail : koho@jimu.kyushu-u.ac.jp

Kyushu
University **VISION 2030**
総合知で社会変革を牽引する大学へ