

グアニン四重鎖を含む DNA に対するトポイソメラーゼ I の反応性

○坂本皓哉¹・横澤龍馬¹・山梨舞子¹・大吉崇文¹ (1 静岡大院理)

The reactivity of Topoisomerase I to G-quadruplex-containing DNA (¹Graduate School of Integrated Science and Technology, Shizuoka University) SAKAMOTO, Koya¹; YOKOSAWA, Ryoma¹; YAMANASHI, Maiko¹; OYOSHI, Takanori¹

グアニン四重鎖 (G4) 構造は、4つのグアニン塩基がフーグスティーン型の水素結合によって形成された G カルテットが重なることで出来る核酸局所構造の一つである。ゲノム DNA 中での G4 の形成は転写の制御やテロメア末端の保護などに関与しており、生体内において重要な役割を果たしていることが知られている^{1,2)}。

G4 の形成は DNA のねじれの状態によって制御されており、ネガティブスーパーコイル DNA 中でその形成が促進されるが、生体内でネガティブスーパーコイル DNA のねじれは、トポイソメラーゼ I (Top1) によって解消され、Relax 状態に巻き戻されることが知られている³⁾。さらに Top1 は、G4 DNA に結合することが報告されている⁴⁾。しかし、G4 を含むネガティブスーパーコイル DNA に対する Top1 の反応性は、未だ明らかになっていない。そこで我々は、G4 を含むネガティブスーパーコイル DNA に対する Top1 の反応性を解析することを目的とした。

G4 を含むネガティブスーパーコイル DNA に対する Top1 の反応性を解析するため、G4 形成配列を含むプラスミドと含まないプラスミドを用意し、これらプラスミドに対して Top1 を反応させた後、アガロースゲル電気泳動によってプラスミドのスーパーコイル状態の変化を解析した。その結果、Top1 は G4 形成配列を含むプラスミドの方をより早くリラックス状態に移行させた。さらに、触媒活性部位を欠損させることで、DNA に結合することは出来るが Relax 化させることが出来ない Top1 の変異体である Top1 ΔCterm を HeLa 細胞内に発現させ、Top1 ΔCterm と G4 の局在を免疫蛍光染色によって調べた結果、Top1 と G4 DNA が共局在していることが分かった。この結果から、Top1 が G4 構造を認識し、その周囲のネガティブスーパーコイルを効率的に解消することが示唆された (Figure 1)。

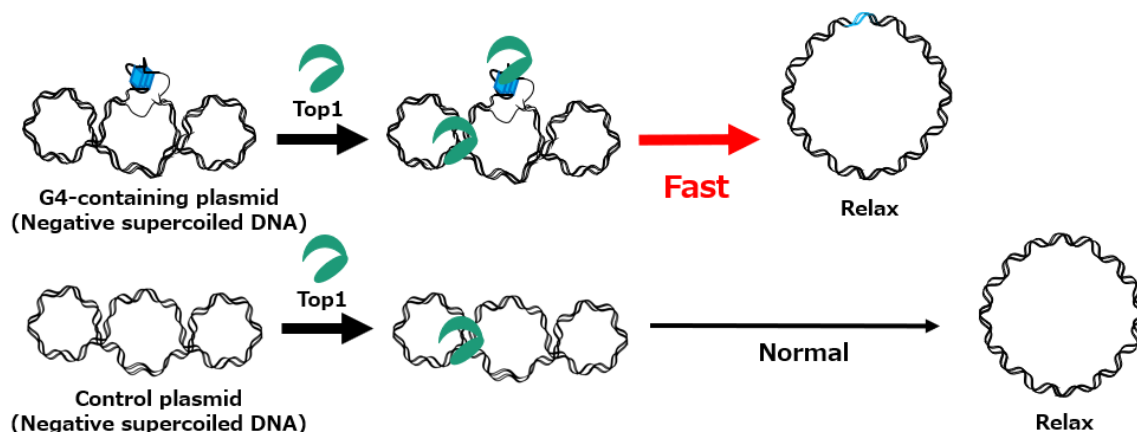


Figure 1. A model of Top1 reactivity to G4-containing plasmid

1) *Proc Natl Acad Sci USA*, 99, 11593-11598, 2002

2) *J Am Chem Soc*, 134, 11974-11976, 2012

3) *J Med Chem*, 52, 2863-2874, 2009

4) *Nucleic Acids Res*, 28, 4832-4838, 2000