

DNA 修復関連タンパク質 HAN の構造予測と X 線小角散乱による検証・構造最適化

小田隆^{1,2}, 内田卓実², 奥隆之¹, 石野園子³, 石野良純³
¹JAEA/J-PARC, ²立教大学, ³九州大学

近年、AlphaFold2 に代表される AI を用いた構造予測の発展がめざましい。本研究では超好熱性古細菌 *Thermococcus kodakaraensis* 由来の DNA 損傷修復関連タンパク質 HAN を対象に AlphaFold2 を用いた構造予測を行い、X 線小角散乱 (SAXS) による検証と構造の最適化を行った。HAN は、以前我々が結晶構造解析を試みたが良質な結晶が得られず、解析を断念したタンパク質である。

HAN は DNA 鎖間架橋損傷の修復に関与し、一本鎖 DNA を 3' → 5' 方向に分解する。HAN は N 末端側から Zinc Finger motif (ZnF)、2 つの OB fold (OB1, OB2)、DNA 分解触媒ドメイン (DHH) の 4 つのドメインを持つことが予測されているが、全体の立体構造は解析されていない。HAN は同じく DNA 架橋損傷の修復に関わるタンパク質 Hef の天然変性領域 (IDR) と相互作用する。Hef は DNA クランプである PCNA とも相互作用し、Hef-HAN-PCNA 三者複合体が架橋損傷により停止した複製フォーク上で機能すると考えられている。しかし、これらの三者が立体障害なく機能できる仕組みはわかっていない。

そこで、本研究では HAN の立体構造を AlphaFold2 で予測して、SAXS で検証するとともに、DNA や Hef IDR との相互作用部位の同定を試みた。HAN は凝集体を形成しやすいため SAXS 測定は PF BL10C でゲル濾過連結 SAXS (SEC-SAXS) 装置を用いて凝集体を除去しながら行った。結果、モデルから計算される散乱パターンと実測の散乱パターンにはややずれが見られた。これは ZnF、OB1 の揺らぎに由来すると考えられ、このことは良質な結晶が得られなかったこととも一致する。そこで、構造アンサンブルとして最適化することで実測データに十分一致する構造モデルを得た。また、モデル構造をもとに一本鎖 DNA 結合部位を予測し、生化学実験により検証した。さらに、Hef IDR との複合体構造を AlphaFold2 で作製し、相互作用部位の同定を進めている。

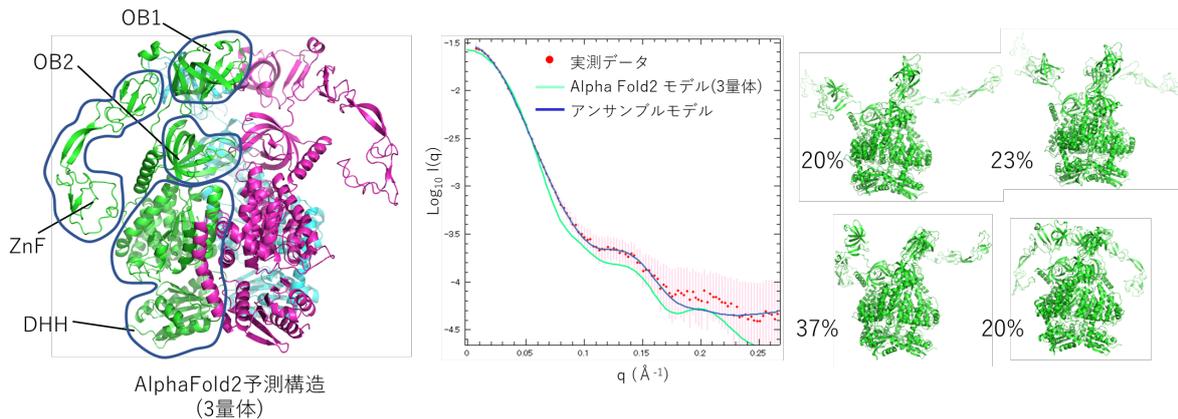


図 1. HAN の立体構造予測. 左: AlphaFold2 予測構造. 中央: モデル構造から計算される SAXS 散乱パターンと実測の散乱データの比較. 右: 構造アンサンブルとして最適化した HAN の構造. 各構造の存在比率を%で表す.