

令和 3 年 6 月 2 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K06089

研究課題名(和文) クライオ電子顕微鏡によるオカザキソームの機能構造連関の研究

研究課題名(英文) Cryo-EM analysis of the 3D-structure and mechanism of okazakisome

研究代表者

真柳 浩太 (Mayanagi, Kouta)

九州大学・生体防御医学研究所・助教

研究者番号：50418571

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：ラギング鎖の複製を担うオカザキソームの重要な基本構造の一つであるFEN-PCNA-DNA複合体の構造を明らかにした。次にFENからDNAリガーゼへDNAが受け渡される瞬間の中間状態を捉えることに成功した。また古細菌のゲノム複製酵素であるPoIDの2つのサブユニットDP1/DP2の組成及び配置を電子顕微鏡で明らかにし、更にこの酵素の機能構造であるPoID-PCNA-DNA複合体の立体構造解析を行った。その結果、複製モードおよび複製の誤りを正す校正モードの2つの異なる構造が得られ、これらの構造をもとにモード切り替えの制御機構を考察した。その他FACTとヌクレオソームの複合体の構造解析なども行った。

研究成果の学術的意義や社会的意義

オカザキソームによるラギング鎖の複製は主にポリメラーゼ、FEN、Ligによって3ステップで進行する。これまで唯一構造が未知であったFEN-PCNA-DNAの構造を明らかにした。また2個の因子間でDNAが手渡しされることは、塩基除去修復の系で仮説として提唱されていたが、DNA複製の系で実際にその瞬間を捉えたのは初めてである。PoIDはPCR等で利用されるPoIBと同様に古細菌のDNA複製酵素であり、非常に高い酵素活性をもつ。しかしながら7つのファミリーのうちPoIDのファミリーのみこれまで構造的知見が乏しかった。本解析によってPoIDの生命科学ツールとしての応用も期待される。

研究成果の概要(英文)：We investigated the 3D-structure of FEN-PCNA-DNA, which plays a key role in okazakisome, the lagging strand replication machine. We also successfully obtained the intermediate state, FEN-Lig-PCNA-DNA complex, in which DNA was being handed over from FEN to Lig.

PoID is the genome DNA replicating enzyme and belongs to the family D polymerase. So far, no structure of proteins belonging to this family has been obtained.

We studied the structure of PoID and its complex with PCNA and DNA, using cryo-EM single particle analysis. The complex exhibited two distinct forms, which were assigned to DNA polymerizing mode and DNA editing mode. Also, we analyzed the structure of nucleosome complexed with AID segment of FACT. The obtained structure revealed the mechanism of the initial step of nucleosome remodeling by FACT.

研究分野：構造生物学

キーワード：単粒子解析 電子顕微鏡 超分子複合体 立体構造解析 DNA複製 オカザキソーム DNAクランプ 生物物理

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

電子直接検出器 (DED) の発展及び普及、Relion を始めとする画期的な解析ソフトウェアの開発により、クライオ電子顕微鏡は原子分解能が到達可能となっていた。しかしながら、研究開始当初、本課題のような複製に関与する超分子複合体は、構成因子の組成や配置が、反応ステップ等によって刻一刻と変わるその遷移的な性質のため、単粒子解析でも解析が困難なものの一つとされていた。特に DED 普及以前は、本課題のターゲットのように PCNA を含んだ 3 者複合体の先行研究としては、我々のグループ自身による一連の研究 (Miyata *et al.*, *PNAS*, 2005, Mayanagi *et al.*, *PNAS*, 2009 & 2011) のみであり、結晶構造解析では報告例が存在していなかった。

DNA 複製フォークにおいて、ラギング鎖側の DNA の複製は主に DNA ポリメラーゼ (Pol)、FEN、DNA リガーゼ (Lig) の 3 因子が基盤分子 PCNA と複合体オカザキソームを形成し、順次一連の反応を進めていると考えられていたが、切り替えの機構等の詳細はわかっていなかった。

研究分担者の石野が発見した PolD に関しては、PCR に利用される PolB ではなく PolD がゲノム複製酵素であることが明らかになり、大変注目されていた。しかしながら、PolD が属するファミリー D の蛋白質は当時ファミリー全体で全長構造の解析例がなかった。尚、全部で 7 つあるポリメラーゼファミリーのなかで唯一、酵素全体の結晶構造が一つも解かれていなかったのは、ファミリー D だけであり、構造解析が困難であることが予想された。

2. 研究の目的

DNA の複製は、リーディング鎖では連続的に行われるのに対し、ラギング鎖側では、DNA ポリメラーゼによる DNA の伸長が 5' 末端から 3' 末端の方向にしかおきないため、不連続的に起こる。即ち Pol による DNA 伸長及びフラップ形成、FEN によるフラップの除去によって多数の岡崎断片が形成され、最後に DNA リガーゼによってニック部で断片が連結されることで 1 サイクルの反応が完結し、以降このサイクルが繰り返される。

オカザキソームによる 3 ステップの反応を担う、3 つの重要な構造のうち、我々の以前の解析によって PolB-PCNA-DNA 及び Lig-PCNA-DNA が既に報告されている。最後の FEN-PCNA-DNA の構造解析を当初の目的に設定した。また、最大 3 つの因子が結合可能な基盤分子 PCNA 上でどのように因子の切り替えが起こるのかを調べるため、FEN-Lig-PCNA-DNA 等、複数の因子が結合した複合体の解析を行うことにした。解析にはこのような柔軟な構造の解析に適した単粒子解析法を用い、Relion 等複数の構造が混在する系に対し威力を発揮するツールを用いて解析することにした。

PolD に関しては、精製条件の改善を試みて、構造解析が可能な純度及び量の蛋白が得られるようにした。精製したタンパク質を用いて単粒子解析、結晶構造解析を試み、更には機能構造である PCNA クランプと基質 DNA からなる複合体の構造解析へ発展させ、PolD による DNA 複製の制御機構を探ることを目的とした。

3. 研究の方法

オカザキソームを形成する DNA クランプ PCNA を始め、Pol、FEN、Lig 等の複製因子を発現・精製した。反応を解析する上で適切なオリゴ DNA を設計し、上記の複製因子と混合することで複合体を再構成した。再構成した複合体をゲルろ過を用いて精製し、同時に溶出溶液等、複合体が安定になる条件を検討した。精製した複合体を負染色または急速凍結を行い、電子顕微鏡観察試料を作製した。所属研究所のクライオ電子顕微鏡を用いて精製及び凍結条件の検討等を行い、高分解能が期待できるもののみ、他機関の電子直接検出器を装備したクライオ電子顕微鏡にて観察、動画によるデータ収集を行い、解析の効率の向上を目指した。電子顕微鏡で取得した画像データをもとに、計算機による画像解析、立体構造解析を行い、ターゲットの平均画像や立体構造を算出した。得られた密度マップに結晶構造を当てはめ、また結晶構造が未知の領域についてはモデリングによって複合体全体の原子モデルを構築した。機能制御や分子間コンタクトに重要なアミノ酸を立体構造情報をもとに特定し、変異体解析等により構造情報の妥当性を検討した。得られた構造をもとに複合体の制御機構を考察した。

4. 研究成果

ラギング鎖複製の 3 ステップの反応を司る複合体のうち、構造未知の FEN-PCNA-DNA の構造を明らかにした。これにより、基本反応を担う Pol-PCNA-DNA、FEN-PCNA-DNA、Lig-PCNA-DNA のすべてを我々の手で明らかにすることができた。次に Lig-FEN-PCNA-DNA の解析も進展させ、フラップ除去後、ニックの入った DNA が FEN から Lig に「手渡し」される様子を捉えることに成功した。このように基質 DNA が連続する反応の前の因子から後続の因子へと「手渡し」(handover) される機構は、塩基除去修復の系では仮説として提唱されていたものの、DNA の複製の系で実際に可視化することができたのは、今回が初めてである。得られた成果を論文にまとめ誌上発表を行った (Mayanagi *et al.*, *Sci.Rep.* 2018)。

PolD に関しては先ず精製条件を改善し、安定に十分な純度及び量のタンパク質が得られるよ

うにした。精製した PoID を単粒子解析によってクラス平均画像および立体構造解析を行った。PoID を構成する DP1、DP2 に関しては部分構造の結晶構造解析がなされていた。これらの結晶構造を、電子顕微鏡で得られた構造情報に当てはめることで、それまで確定していなかった PoID のサブユニット組成、および相対的な配置を決定することができた (Takashima et al., Extremophile 2018)。次に PoID、PCNA、及び DNA から構成される複合体の解析を行った。その結果、複合体が溶液中で A 型及び B 型の 2 つの構造をとることを見出した。2 年目から最終年度にかけては本複合体の解析の分解能を向上させ、おもに未決定だった PoID の DP2 サブユニットの C 末端領域の原子モデルの構築を進めるとともに、この 2 構造が DNA の伸長モードと複製の誤りを修正する校正モードに対応し、両モードの切り換えが PCNA の E171 等を始めとする、構成因子間の相互作用スイッチの切り換えによって起こるとい機構のモデルを提唱した (Mayanagi et al., BMC Biol, 2020)。

最終年度は PoID とプライマーゼの複合体の解析にも着手した。クライオ電子顕微鏡によって画像データを取得し、立体構造解析を行った。その結果、プライマーゼの PriS サブユニットが PoID の DP1 サブユニットから突出している様子を可視化することができた。しかしながら、プライマーゼが非常に柔軟に構造を変化させるために、可視化できたのは PriS の DP 1 結合領域周辺に限られ、プライマーゼのもう一つのサブユニット PriL に関しては可視化することが未だできていない。本結果は分担者の石野による生化学実験とともに論文掲載が決定した (Oki et al., Nucleic Acids Research. 2021)。

この他、ヌクレオソームトリモデリング因子 FACT の AID セグメントの複合体の解析を行った。その結果、酸性残基に富む FACT の AID セグメントが DNA と入れ替わる形でヌクレオソームに潜り込み、ヒストンコアに結合する様子を捉えることに成功した。これにより FACT によって DNA が剥がされるヌクレオソーム破壊の機構の最初のステップが明らかとなった。また、ヌクレオソームの不安定化によりヒストンダイマー H2A/H2B が一組脱落して生じる、ヘキサソームの構造を初めて高分解能で得ることに成功した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計15件（うち査読付論文 14件 / うち国際共著 5件 / うちオープンアクセス 6件）

1. 著者名 Oki Keisuke, Yamagami Takeshi, Nagata Mariko, Mayanagi Kouta, Shirai Tsuyoshi, Adachi Naruhiko, Numata Tomoyuki, Ishino Sonoko, Ishino Yoshizumi	4. 巻 49
2. 論文標題 DNA polymerase D temporarily connects primase to the CMG-like helicase before interacting with proliferating cell nuclear antigen	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nucleic Acids Research	6. 最初と最後の頁 4599 ~ 4612
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/nar/gkab243	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Mayanagi Kouta, Oki Keisuke, Miyazaki Naoyuki, Ishino Sonoko, Yamagami Takeshi, Morikawa Kosuke, Iwasaki Kenji, Kohda Daisuke, Shirai Tsuyoshi, Ishino Yoshizumi	4. 巻 18
2. 論文標題 Two conformations of DNA polymerase D-PCNA-DNA, an archaeal replisome complex, revealed by cryo-electron microscopy	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 BMC Biology	6. 最初と最後の頁 152
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12915-020-00889-y	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Fang Yuan, Akimoto Masaru, Mayanagi Kouta, Hatano Atsushi, Matsumoto Masaki, Matsuda Shigeru, Yasukawa Takehiro, Kang Dongchon	4. 巻 53
2. 論文標題 Chemical acetylation of mitochondrial transcription factor A occurs on specific lysine residues and affects its ability to change global DNA topology	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Mitochondrion	6. 最初と最後の頁 99 ~ 108
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.mito.2020.05.003	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Kouta Mayanagi, Kazumi Saikusa, Naoyuki Miyazaki, Satoko Akashi, Kenji Iwasaki, Yoshifumi Nishimura, Kosuke Morikawa, Yasuo Tsunaka	4. 巻 9
2. 論文標題 Structural visualization of key steps in nucleosome reorganization by human FACT	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 10183
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-019-46617-7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Takashima Natsuki, Ishino Sonoko, Oki Keisuke, Takafuji Mika, Yamagami Takeshi, Matsuo Ryotaro, Mayanagi Kouta, Ishino Yoshizumi	4. 巻 23
2. 論文標題 Elucidating functions of DP1 and DP2 subunits from the Thermococcus kodakarensis family D DNA polymerase	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Extremophiles	6. 最初と最後の頁 161 ~ 172
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00792-018-1070-3	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Mayanagi Kouta, Ishino Sonoko, Shirai Tsuyoshi, Oyama Takuji, Kiyonari Shinichi, Kohda Daisuke, Morikawa Kosuke, Ishino Yoshizumi	4. 巻 8
2. 論文標題 Direct visualization of DNA baton pass between replication factors bound to PCNA	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-018-34176-2	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kouyama Kenichi, Mayanagi Kouta, Nakae Setsu, Nishi Yoshisuke, Miwa Masanao, Shirai Tsuyoshi	4. 巻 16
2. 論文標題 Single-particle analysis of full-length human poly(ADP-ribose) polymerase 1	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biophysics and Physicobiology	6. 最初と最後の頁 59 ~ 67
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2142/biophysico.16.0_59	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nagata Mariko, Ishino Sonoko, Yamagami Takeshi, Ishino Yoshizumi	4. 巻 83(4)
2. 論文標題 Replication protein A complex in Thermococcus kodakarensis interacts with DNA polymerases and helps their effective strand synthesis	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry	6. 最初と最後の頁 695-704
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/09168451.2018.1559722	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Liu Ying, Brandt David, Ishino Sonoko, Ishino Yoshizumi, Koonin Eugene V., Kalinowski J?rn, Krupovic Mart, Prangishvili David	4. 巻 -
2. 論文標題 New archaeal viruses discovered by metagenomic analysis of viral communities in enrichment cultures	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Environmental Microbiology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/1462-2920.14479	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Shiraishi Miyako, Ishino Sonoko, Heffernan Matthew, Cann Isaac, Ishino Yoshizumi	4. 巻 8
2. 論文標題 The mesophilic archaeon Methanosarcina acetivorans counteracts uracil in DNA with multiple enzymes: EndoQ, ExoIII, and UDG	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-018-34000-x	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Ishino Sonoko, Skouloubris Stephane, Kudo Hanae, I' Hermitte-Stead Caroline, Es-Sadik Asmae, Lambry Jean-Christophe, Ishino Yoshizumi, Myllykallio Hannu	4. 巻 46
2. 論文標題 Activation of the mismatch-specific endonuclease EndoMS/NucS by the replication clamp is required for high fidelity DNA replication	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Nucleic Acids Research	6. 最初と最後の頁 6206 ~ 6217
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/nar/gky460	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Miyazono Ken-ichi, Ishino Sonoko, Makita Naruto, Ito Tomoko, Ishino Yoshizumi, Tanokura Masaru	4. 巻 46
2. 論文標題 Crystal structure of the novel lesion-specific endonuclease PfuEndoQ from Pyrococcus furiosus	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Nucleic Acids Research	6. 最初と最後の頁 4807 ~ 4818
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/nar/gky261	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Daimon Katsuya, Ishino Sonoko, Imai Namiko, Nagumo Sachiyo, Yamagami Takeshi, Matsukawa Hiroaki, Ishino Yoshizumi	4. 巻 5
2. 論文標題 Two Family B DNA Polymerases From <i>Aeropyrum pernix</i> , Based on Revised Translational Frames	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Frontiers in Molecular Biosciences	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fmolb.2018.00037	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Ishino Yoshizumi, Krupovic Mart, Forterre Patrick	4. 巻 200
2. 論文標題 History of CRISPR-Cas from Encounter with a Mysterious Repeated Sequence to Genome Editing Technology	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Bacteriology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1128/JB.00580-17	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 石野良純	4. 巻 56
2. 論文標題 CRISPR発見から30年	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 化学と生物	6. 最初と最後の頁 237-238
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計44件(うち招待講演 10件/うち国際学会 11件)

1. 発表者名 沖啓輔, 真柳浩太, 宮崎直幸, 石野園子, 山上健, 森川耿右, 岩崎憲治, 神田大輔, 白井剛, 石野良純
2. 発表標題 Two conformations of DNA polymerase D-PCNA-DNA complex in a hyperthermophilic archaeon <i>Thermococcus kodakarensis</i> .
3. 学会等名 2020年度 日本フードファクター学会・日本農芸化学会西日本支部 合同大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 川崎由貴, 有山弘高, 藤浪大輔, 本村肇, Ashutosh Srivastava, Florence Tama, 能代大輔, 安藤敏夫, 真柳浩太, 神田大輔
2. 発表標題 統合的なAFM, NMR, 電顕単粒子解析により明らかにされたオリゴ糖転移酵素の動的構造.
3. 学会等名 第38回日本糖質学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kouta Mayanagi, Sonoko Ishino, Tsuyoshi Shirai, Takuji Oyama, Shinichi Kiyonari, Daisuke Kohda, Kosuke Morikawa, Yoshizumi Ishino
2. 発表標題 Direct Visualization of DNA Baton Pass between Replication Factors Bound to Archaeal Okazakisome
3. 学会等名 15th International Congress on Thermophiles (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Keisuke Oki, Mariko Nagata, Sonoko Ishino, Takeshi Yamagami, Tomoyui Numata, Kouta Mayanagi, and Yoshizumi Ishino
2. 発表標題 Interactions of helicase, DNA polymerase, and primase to form functional replisome in the hyperthermophilic archaeon, Thermococcus kodakarensis.
3. 学会等名 15th International Congress on Thermophiles (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yuki Kawasaki, Hiroataka Ariyama, Daisuke Fujinami, Hajime Motomura, Ashutosh Srivastava, Florence Tama, Daisuke Noshiro, Toshio Ando, Kouta Mayanagi, Daisuke Kohda
2. 発表標題 Integrative Analysis Combining AFM, NMR, and EM Revealed Two-State Conformational Exchange of a Single-subunit Oligosaccharyltransferase from Archaeoglobus fulgidus.
3. 学会等名 15th International Congress on Thermophiles (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 真柳 浩太, 沖 啓輔, 宮崎 直幸, 石野 園子, 山上 健, 岩崎 憲治, 森川 耿右, 神田 大輔, 白井 剛, 石野 良純
2. 発表標題 クライオ電子顕微鏡によるPoID-PCNA-DNA複合体の構築様式及び切換え機構の解析
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 白石 大智, 片山 雄太, 西山 正章, 真柳 浩太, 神田 大輔, 浦 聖恵, 鯨井 智也, 胡桃坂仁志, 中山 敬一
2. 発表標題 クロマチンリモデリング因子CHD8の機能異常によるASD発症の分子基盤の解明
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 津中 康央, 真柳 浩太, 七種 和美, 宮崎 直幸, 明石 知子, 岩崎 憲治, 西村 善文, 森川 耿右
2. 発表標題 FACTによって引き起こされるヘキサゾーム構造の電子顕微鏡解析
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 沖 啓輔, 山上 健, 永田 麻梨子, 真柳 浩太, 沼田 倫征, 石野 園子, 石野 良純
2. 発表標題 PoID上での相互作用因子スイッチングによるアーキア特有のレプリソーム機能変換機構の提唱
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 三輪 正直, 香山 賢一, 真柳 浩太, 中江 撰, 西 義介, 白井 剛
2. 発表標題 単粒子電子顕微鏡による全長ヒトポリ(ADP-リボース)合成酵素1の2量体構造
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山上 健, 沖 啓輔, 高島 夏希, 高藤 三加, 真柳 浩太, 石野 園子, 石野 良純
2. 発表標題 Thermococcus kodakarensis由来ファミリーD DNAポリメラーゼの調製法の改良とその生化学的解析
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 真柳浩太
2. 発表標題 クライオ電顕で見る超分子複合体の立体構造
3. 学会等名 第42回蛋白質と酵素の構造と機能に関する九州シンポジウム(招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 真柳浩太
2. 発表標題 FACT-ヌクレオソーム複合体の単粒子解析
3. 学会等名 第2回 エピジェネティック因子の構造と機能をつなぐ会(招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 真柳浩太
2. 発表標題 DNA-蛋白質複合体の単粒子解析
3. 学会等名 生理研研究会2018 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 真柳浩太, 沖啓輔, 石野園子, 宮崎直幸, 岩崎憲治, 神田大輔, 白井剛, 石野良純
2. 発表標題 クライオ電顕で「見る」古細菌複製フォーク複合体の機能構造
3. 学会等名 第41回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 津中康央, 真柳浩太, 七種和美, 七種和美, 宮崎直幸, 明石知子, 岩崎憲治, 西村善文, 森川耿右
2. 発表標題 ヌクレオソーム構造変換におけるFACT酸性天然変性領域の新たな分子機能
3. 学会等名 41回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Keisuke Oki, Takeshi Yamagami, Mariko Nagata, Natsuki Takashima, Kouta Mayanagi, Sonoko Ishino, and Yoshizumi Ishino
2. 発表標題 Family D DNA polymerase tethers primase and helicase in the replisome in <i>Thermococcus kodakarensis</i>
3. 学会等名 12th International Congress on Extremophiles (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Sonoko Ishino, Kouta Mayanagi, Tsuyoshi Shirai, Shinichi Kiyonari, Namiko Imai, Takuji Oyama, and Yoshizumi Ishino
2. 発表標題 Biochemical and Structural analyses of replication proteins bound to PCNA
3. 学会等名 12th International Congress on Extremophiles (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yuki Kawasaki, Kouta Mayanagi, Ashutosh Srivastava, Hirotaka Ariyama, Florence Tama, Toshio Ando, and Daisuke Kohda
2. 発表標題 Integrative approach combining electron microscopy and high-speed AFM revealed the dynamic conformational exchange of the oligosaccharyltransferase in lipid bilayers
3. 学会等名 第13回研究所ネットワーク国際シンポジウム (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 沖啓輔, 山上健, 永田麻梨子, 高島夏希, 真柳浩太, 白井剛, 石野園子, 石野良純
2. 発表標題 超好熱性アーキアThermococcus kodakarensis由来ファミリーD DNAポリメラーゼの分子解剖による機能分布の解明
3. 学会等名 第41回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yoshizumi Ishino, Keisuke Oki, Mariko Nagata, Kouta Mayanagi, Tsuyoshi Shirai, Takuji Oyama, Kosuke Morikawa, Takeshi Yamagami, and Sonoko Ishino
2. 発表標題 Replisome structure and its functions in Archaea
3. 学会等名 OKAZAKI Fragment Memorial Symposium: Celebrating the 50th anniversary of the discontinuous DNA replication model (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 石野園子、真柳浩太、白井剛、清成信一、今井奈美子、大山拓次、山上健、石野良純
2. 発表標題 超好熱性アーキア由来クランプPCNA 上で働くDNA 複製タンパク質の生化学および構造の解析
3. 学会等名 日本農芸化学会2019年度大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Mariko Nagata, Sonoko Ishino, Takeshi Yamagami, Yoshizumi Ishino
2. 発表標題 Regulation of replication fork progression in the hyperthermophilic archaeon Thermococcus kodakarensis
3. 学会等名 OKAZAKI Fragment Memorial Symposium: Celebrating the 50th anniversary of the discontinuous DNA replication model (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 石野園子、牧田成人、白石 都、山上 健、宮園健一、田之倉 優、石野良純
2. 発表標題 アーキア由来損傷塩基特異的エンドヌクレアーゼEndoQの変異体解析
3. 学会等名 極限環境生物学会2018年度(第19回)年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 石野良純
2. 発表標題 アーキアにおけるレプリソーム構成因子とその機能の多様性について
3. 学会等名 第41回日本分子生物学会年会(招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 山上 健、瀬戸口勇登、沖 啓輔、石野園子、石野良純
2. 発表標題 クレンアーキオータ門において機能的にヘリカーゼとプライマーゼを連結するタンパク質の検索
3. 学会等名 第41回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 石野園子、工藤華枝、Stephane Skouloubris、Caroline l'Hermitte-Stead、Asmae Essadik、Jean Christophe Lambry、Hannu Myllykallio、石野良純
2. 発表標題 ミスマッチ特異的エンドヌクレアーゼEndoMS/NucSのDNA修復における役割
3. 学会等名 第41回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 永田麻梨子、石野園子、山上 健、石野良純
2. 発表標題 アーキアのDNA複製進行時におけるMCMの活性制御
3. 学会等名 第41回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yoshizumi Ishino
2. 発表標題 Different functions of the two Cdc45/RecJ proteins for replication fork progression in Thermococcus kodakarensis
3. 学会等名 12th International Congress on Extremophiles (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Mariko Nagata, Sonoko Ishino, Takeshi Yamagami, Jan-Robert Simons, Tamotsu Kanai, Haruyuki Atomi, and Yoshizumi Ishino
2. 発表標題 Euryarchaea-specific RecJ-like protein may work in stalled fork repair with Hef.
3. 学会等名 12th International Congress on Extremophiles
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yoshizumi Ishino
2. 発表標題 Complex formation of Helicase - DNA polymerase - Primase for replication fork progression in Thermococcus kodakarensis
3. 学会等名 Molecular Biology of Archaea 6 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Sonoko Ishino, Ken-ichi Miyazono, Naruto Makita, Tomoko Ito, Masaru Tanokura and Yoshizumi Ishino
2. 発表標題 Structure-based mutational analysis of the lesion-specific endonuclease
3. 学会等名 Molecular Biology of Archaea 6 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 石野良純
2. 発表標題 Pyrococcusはゲノム安定性維持機構研究にとっての金鉱であった！
3. 学会等名 第31回日本アーキア研究会講演会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 石野 園子、Stephane Skouloubris、工藤 華枝、Caroline l'Hermitte-Stead、Asmae Essadik、Jean-Christophe Lambry、石野 良純、Hannu Myllykallio
2. 発表標題 ランブ分子と協調するDNAミスマッチ特異的切断酵素の進化
3. 学会等名 第31回日本Archaea研究会講演会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yoshizumi Ishino
2. 発表標題 Encounter with a mysterious repeated DNA sequence in 1986
3. 学会等名 Special Lecture on the 5th Anniversary of the Tohoku Forum for Creativity, "Genome Editing" (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 石野園子、Stephane Skouloubris、工藤華枝、Caroline l'Hermitte-Stead、Asmae Essadik、Jean-Christophe Lambry、石野良純、Hannu Myllykallio
2. 発表標題 DNAミスマッチ特異的切断酵素EndoMS/NucSはクランプ分子と協調してゲノムの安定性維持に働く
3. 学会等名 平成30年度日本生化学会九州支部例会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 永田麻梨子、石野園子、山上 健、石野良純
2. 発表標題 Replication protein A in Thermococcus kodakarensis functionally interacts with DNA polymerases
3. 学会等名 平成30年度日本生化学会九州支部例会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 沖 啓輔、永田麻梨子、高島夏希、山上 健、石野園子、石野良純
2. 発表標題 超好熱性アーキ アThermococcus kodakarensisのレプリソーム形成機構解析
3. 学会等名 平成30年度日本生化学会九州支部例会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 瀬戸口勇登、沖 啓輔、山上 健、石野園子、石野良純
2. 発表標題 クレンアーキオタにおけるレプリソーム構成タンパク質の探索
3. 学会等名 平成30年度日本生化学会九州支部例会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 峯 涉、工藤華枝、山上 健、石野良純、石野園子
2. 発表標題 アーキアに機能的なMutS/MutLタンパク質は存在するか？
3. 学会等名 平成30年度日本生化学会九州支部例会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 石野良純
2. 発表標題 蛋白質工学によるDNAポリメラーゼの機能改変
3. 学会等名 第4回蛋白質工学研究会ワークショップ『蛋白質工学と理論・インシリコアプローチ』
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 石野園子、大門克哉、今井奈美子、南雲吉代、山上 健、松川博昭、石野良純
2. 発表標題 PCRに実用可能なクレンアーキア由来のファミリーB DNAポリメラーゼ
3. 学会等名 第18回日本蛋白質科学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 石野良純
2. 発表標題 DNA関連酵素と遺伝子工学技術 ~その40年の歴史~
3. 学会等名 平成30年度日本農芸化学会西日本支部例会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 石野良純
2. 発表標題 CRISPR-Cas研究の歴史~ミステリアスな繰り返し配列の発見からゲノム編集技術まで~
3. 学会等名 第121回日本小児科学会学術集会(招待講演)
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担者	石野 良純 (Ishino Yoshizumi) (30346837)	九州大学・農学研究院・教授 (17102)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
連携研究者	白井 剛 (Shirai Tsuyoshi) (00262890)	長浜バイオ大学・公立大学の部局等・教授 (34204)	
連携研究者	大山 拓次 (Oyama Takuji) (60423133)	山梨大学・総合研究部・准教授 (13501)	
連携研究者	高橋 達郎 (Takahashi Tatsuro) (50452420)	九州大学・理学(系)研究科(研究院)・教授 (17102)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関			
ドイツ	Max-Planck-Institute			