

## 機能的タンパク質複合体の検索を介した早老症関連 タンパク質の機能の解析

### [1] 組織

代表者：榎本武美

(武蔵野大学薬学部教授)

対応者：安井 明

(東北大学加齢医学研究所)

分担者：菅野 新一郎

(東北大学加齢医学研究所)

研究費：物件費，旅費 25万円

### [2] 研究経過

ゲノムの安定維持機構の破綻は早期老化や発癌の原因になる。RecQ ファミリーヘリカーゼは、このゲノムの安定維持に関与すると考えられており、大腸菌からヒトまで保存されている。ヒトの細胞には5種類の酵素、RecQ ファミリーヘリカーゼ RECQL1, BLM (RECQL2), WRN (RECQL3), RECQL4, RECQL5 が存在する。これらのうち BLM, WRN, RECQL4 遺伝子の変異は、高発がん性や早期老化を特徴とするブルーム症候群、ウェルナー症候群、ロスモンド・トムソン症候群の原因となる。前年度までの本共同研究では、WRN に結合する WRNIP1 の機能の解析と RECQL4 の機能の解析を行った。平成22年度は、RecQ ファミリーヘリカーゼのうち、解析が最も遅れている RECQL1 の機能の解析を行った。

RECQL1 は最初に発見された RecQ ファミリーヘリカーゼであるが、DNA の組換えに関与する可能性が示唆されているだけで、その機能はほとんどわかっていない。本研究では、RECQL1 の DNA 損傷認識能の検討と RECQL1 と相互作用するタンパク質を検索することにより、RECQL1 の機能の解明を試みた。

RECQL1 の DNA 損傷認識能の検討では細胞にレーザー光を照射して様々な DNA 損傷を誘導し、どのような損傷に集積するかを調べた。その結果、RECQL1 は DNA 二本鎖切断を認識して集積する可能性が示唆された。また、この集積に必要な RECQL1 の領域を調べたところ、N 末の90アミノ酸からなる領域であることが明らかになった。この領域には、コイルド・コイル構造が存在することが

明らかになった。

RECQL1 と相互作用するタンパク質を検索では Flag RECQL1 を発現する細胞を樹立し、相互作用タンパク質を nanoLC/MS/MS を用いて同定した。その結果、LaminB1、Spindlin1 と機能未知の C11orf84 を同定することができた。これらのタンパク質の細胞内局在を抗体を用いて調べたところ、RECQL1 と C11orf84 が核膜に存在することが明らかになった。LaminB1 は核膜に存在し、Spindlin1 は C11orf84 とともに結合することから、RECQL1、C11orf84、Spindlin1 が複合体を形成し、LaminB1 とともに核膜に局在すると考えられる。

一方、RECQL1 は核膜だけでなく核質全体に分散して存在する。DNA 修復に関わるエンド・エキソヌクレアーゼである PALF は RECQL1 に結合するが、この PALF も RECQL1 と同様な存在様式を示した。したがって、RECQL1 は少なくとも2つの異なる複合体を形成し、異なる機能を果たしているものと考えられる (図1)。

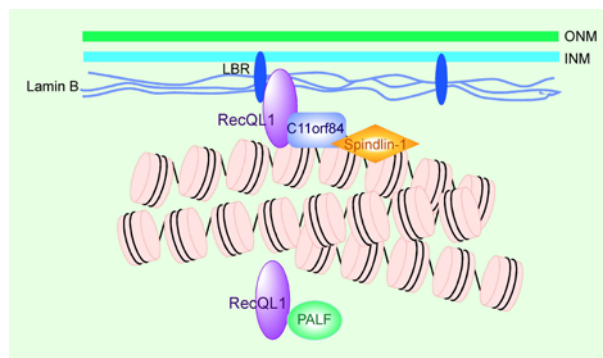


図1

### [3] 成果

#### (3-1) 研究成果

本年度は以下に示す研究成果を得た。まず第1に、RECQL1 が DNA 二本鎖切断を認識して集積する可能性が示され、この集積に必要な RECQL1 の領域を調べたところ、N 末の90アミノ酸からなる領域であることが明らかになった。

第2に、RecQL1 に結合するタンパク質として LaminB1、Spindlin1 と機能未知の C11orf84 を同定した。

第3に、RECQL1 が C11orf84、Spindlin1、LaminB1 と複合体を形成し、核膜に局在する可能性が示唆された。

第4に、RECQL1 は核質全体に分散して存在し、PALF と複合体を形成する可能性が示唆され、RECQL1 は少なくとも2つの異なる複合体を形成し、異なる機能を果たしていることが示唆された。

#### (3-2) 波及効果と発展性など

DNA の組換えに関与する可能性が示唆されているだけで、機能解析がほとんど分かっていない RECQL1 が DNA 二本鎖切断を認識して集積することが判明したことは、RECQL1 の DNA の組換えにおける役割を知るうえで大きな進展であった。また、RECQL1 が PALF と複合体を形成するだけでなく、核膜上で LaminB1、Spindlin1、C11orf84 と複合体を形成するという発見は、これまで全く知られていなかった RECQL1 の機能の発見につながる可能性があり、今後の展開が期待される。

#### [4] 成果資料

研究成果はまだ未発表であるが、ごく近い将来発表する予定で、現時点での発表論文はない。