

放射照射によって誘発される欠失変異及び転座を導く DNA 修復経路の解明

[1] 組織

代表者：柴田 淳史
(群馬大学先端科学研究指導者
育成ユニット)
対応者：安井 明
(東北大学加齢医学研究所)
分担者：宇井 彩子
(東北大学加齢医学研究所)

研究費：物件費 16 万 9380 円，旅費 3 万 620 円

[2] 研究経過

放射線照射は様々な細胞傷害を誘発するが、その中でも DNA 二本鎖の切断 (DNA double strand break: DSB) は細胞の運命を決定する最も重篤な損傷である。古くから DSB 連結後に欠失や転座等の突然変異が生じることは知られているが、いくつか存在する DNA 修復経路の中で、細胞がどの経路を選択し、またどのような過程を経て欠失・転座を引き起こすかについては未だ多くが明らかになっていない。

転座及び欠失変異は DSB 末端の削り込み、すなわち DNA-end resection を介して生じると考えられている。DSB 修復の中でも相同組換え修復において、DNA-end resection は積極的に行われる。申請者らの研究から G2 期細胞においては、MRE11 の endonuclease 活性が resection を開始し、その下流において MRE11 の exonuclease 活性と EXO1 の exonuclease 活性が相互作用して resection を完了することが分かってきた (1)。一方で、相同組換え修復が行われない G1 細胞で DNA-end resection が生じた場合は、転座及び欠失変異に繋がると考えられている。G2 期・G1 期のどちらにおいても DNA-end resection を促進し、相同組換え修復及び欠失・転座を誘引する分子として CtIP/LEDGF が知られているが、その分子機構は未だ多くが明らかになっていない (2, 3)。本研究では DNA-end resection における CtIP/LEDGF の分子機構を明らかにするため、CtIP/LEDGF と相互作用をする新規

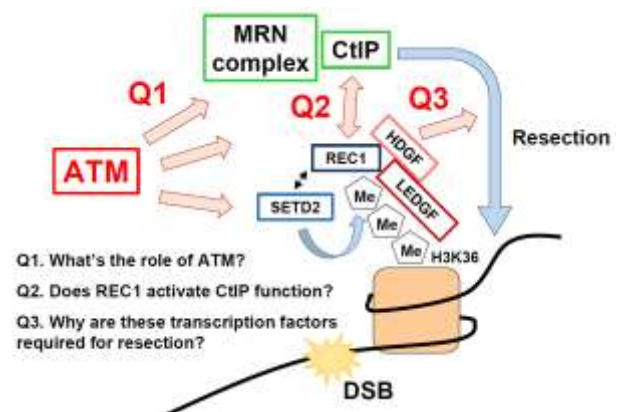
分子の探索を行った。以下、研究活動状況の概要を記す。

平成 26 年 6 月 5 - 6 日に研究打ち合わせを行った。研究打ち合わせでは、安井明教授及び研究室のメンバーである菅野新一郎講師、宇井彩子助教とともに、IP-MS スクリーニングにより同定された種々のタンパク質から候補タンパク質への絞り込みについて研究議論を行った。

[3] 成果

(3-1) 研究成果

GST-LEDGF をベイトとして IP-MS スクリーニングを行った結果、特に候補となるような分子の同定は出来なかった。そこで我々は LEDGF のホモログである HDGF2 をベイトとし、GST-HDGF を用いて IP-MS スクリーニングを行った。その結果、RNA polymerase II (RNAPII) Elongation Complex 1 (REC1) が新規相互作用因子として同定された。REC1 は LEDGF と相互作用することが今年 1 月に報告されたことから、我々が同定した REC1 が細胞内において HDGF2 に相互作用している可能性が非常に高いと考えられる (4)。siRNA を用いて REC1 をノックダウンした結果、放射線照射によって誘発される DNA-end resection のマーカーである RPA foci の顕著な低下が認められた。今後は、1) DNA 損傷シグナルの中心分子である ATM との相互作用、2) resection の中心分子である MRE11/CtIP との相互作用、3) 転写因子である REC1 がなぜ resection に関わるのか、という疑問に焦点を当て、研究の継続を予定している (下図)。



(3-2) 波及効果と発展性など

この共同研究により、東北大学加齢研究所に訪問することで、同研究所所属の安井明教授、菅野新一郎講師、宇井彩子助教との意見交換が活発に行われるようになった。また東北大学訪問時に、DNA修復研究に関わる若手主体のワークショップ・ゲノムダメージネットワークワークショップを開催することが出来た。本研究課題以外のお互いの研究室で進行しているプロジェクトについても意見交換を行うことが出来、申請者の東北大学訪問は互いの研究室にとって有益なものとなった。

また、本共同研究で得られた研究成果は、DSB修復と転写因子の機能交換という新しい研究領域の開拓（萌芽的研究の発見）に結びつき、今後の発展が期待されている。

[4] 成果資料

研究成果は現時点で未発表ある。

参考文献

1. DNA double-strand break repair pathway choice is directed by distinct MRE11 nuclease activities. *Mol. Cell*, 2014
2. Daugaard M. et al., LEDGF (p75) promotes DNA-end resection and homologous recombination. *Nat. Stru. Mol. Biol.*, 2012.
3. Pfister SX et al., SETD2-dependent histone H3K36 trimethylation is required for homologous recombination repair and genome stability. *Cell Rep.*, 2014.
4. Gerard A et al., The integrase cofactor LEDGF/p75 associates with Iws1 and Spt6 for postintegration silencing of HIV-1 gene expression in latently infected cells. *Cell Host Microbe*, 2015