

DNA二本鎖切断の修復反応における新規機構の研究

[1] 組織

代表者：矢島 浩彦
(放射線医学総合研究所 重粒子セ)

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：物件費等 274,720 円，旅費 25,280 円

[2] 研究経過

X線等に比べると、重粒子線は線エネルギー付与(LET: Linear Energy Transfer)が高いため、イオン粒子の飛跡に沿って短い距離の間に多くのエネルギーを放出する(高LET。X線やガンマ線は低LET放射線である)。そのため、重粒子線によって生じたDNA二本鎖切断(DSB)は近傍に複数の損傷が同時に生じている場合が多く、complex DSBなどと呼ばれる。ヒト細胞において主要なDSBの修復系は非相同末端結合(NHEJ)と相同組換え(HR)によるものだが、complex DSBはNHEJによる修復の効率が低いことが知られている。私たちはこれまでに、複雑なDSB構造はHRの初期反応として知られるDNA end resectionを誘発する要因となる事を明らかにし、その過程の重要因子の一つであるCtIPが重粒子線照射で高度にリン酸化される事を示した。また、HRの出来ないG1期細胞でも約30%がCtIP依存的なresection活性を示すことを明らかにした。さらに私たちは、resectionの始動に重要な役割を果たす事が知られているCtIPが、その後フォーカス形成を継続し低レベルのリン酸化状態にある事を見いだした。この事は、resectionの始動後にもCtIPが何らかの役割を担っている事を示唆する(図1)。こうした経緯から本研究の目的は、DSB修復において重要な機能を持つCtIPに特に着目し、その働きを解明する事で修復過程における新しい機構を明らかにする事である。共同研究の遂行に関しては、通常の電子メールのやり取りの他に代表者が加齢研を訪問して議論をした。さらに学会参

加時にも議論を重ねた。加齢研側で構築したプラスミドを放医研側で利用するなど、密接な共同研究を遂行している。

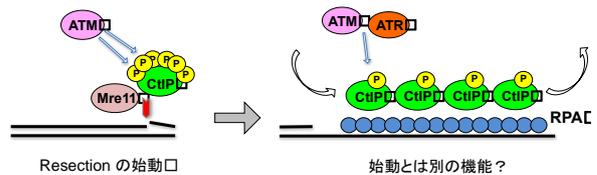


図1. DNA end resection と CtIP の機能

[3] 成果

(3-1) 研究成果

本年度は、以下の研究成果を得た。

CtIPがフォーカスを維持する過程での低レベルリン酸化は、ATMの他にATRによっても制御されている可能性を示唆する結果を得た。また、DSB部位でCtIPタンパク質はターンオーバーしており、resectionが進行した後も積極的なリクルートが続いている事も明らかにし、これらの結果をMutat Res誌に発表した([4]参照)。多様な修飾を受けるCtIP分子の相互作用タンパク質を解明するために、加齢研においてプロテオミクスの検討を進めた。CtIPの発現用細胞株の樹立がうまくいかなかったため、中央部とC末部を作製しそれぞれと結合性を示す多くのヒトタンパク質を質量分析によって同定した。また、一過性発現によって重粒子線照射後の相互作用タンパク質を検索する計画も進めている。

(3-2) 波及効果と発展性など

これまでに、DSB構造の複雑さが修復経路選択に影響を及ぼす重要な要因であることを示してきた。本課題により、さらにCtIPの新規の機能や制御機構、関連因子を発見・同定できれば、DSB認識から始まる損傷応答機構の解明に大きく寄与すると考えられ、研究領域への波及効果は大きい。また本課題の成果は、個別化医療を含む重粒子線がん治療の向上にも資することが期待される。

[4] 成果資料

関連論文

(1) Fujisawa, H., Fujimori, A., Okayasu, R., Uesaka, M. and Yajima, H. (2015) Novel characteristics of CtIP at damage-induced foci following the initiation of DNA end resection. *Mutation Research / Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*. 771:36-44

(2) Xue, L., Furusawa, Y., Okayasu, R., Miura, M., Cui, X., Liu, C., Hirayama, R., Matsumoto, Y., Yajima, H. and Yu, D. (2015) The complexity of DNA double strand break is a crucial factor for activating ATR signaling pathway for G2/M checkpoint regulation regardless of ATM function. *DNA repair*. 25:72-83

関連学会発表

(1) 矢島 浩彦、劉 翠華、中島 菜花子「DNA二本鎖切断の修復過程における DNA 末端の削り込みと細胞応答」日本放射線影響学会 第57回大会。(鹿児島) 2014.10.1~3

(2) 藤澤 寛、藤森 亮、岡安 隆一、上坂 充、矢島 浩彦「DNA 相同組換え修復の末端リセクションにおける CtIP タンパク質フォーカスに関する研究」日本放射線影響学会 第57回大会。(鹿児島) 2014.10.1~3

(3) 藤澤 寛、藤森 亮、岡安 隆一、上坂 充、矢島 浩彦「DNA二本鎖切断部位において CtIP は end resection 始動後に興味深い挙動を示す」第37回日本分子生物学会年会 (横浜) 2014.11.25~27

(4) Hirohiko Yajima, Lian Xue, Cuihua Liu, Hiroshi Fujisawa, Nakako Izumi Nakajima 「DNA repair and checkpoint pathways in human cells exposed to heavy ion radiation」HIMAC International Symposium 2015 -20th Year Anniversary Event- (Tokyo) 2015.1.19-20