

課題番号 61

ポリコームの細胞老化と染色体不安定性におけるメカニズムの解明

[1] 組織

代表者：宇井 彩子

(東京工科大学・応用生物学部)

対応者：安井 明

(東北大学・加齢医学研究所)

分担者：岡田 麻衣子

(東京工科大学・応用生物学部)

研究費：物件費 373,920 円，旅費 26,080 円

[2] 研究経過

ポリコーム群タンパク質は発生における転写制御に関与することが知られているが、細胞老化との関連も示唆されており、ポリコーム群タンパク質がp16の発現を抑制することで、p16に依存した細胞老化に関わることが報告されている。さらに、ポリコーム群タンパク質はのPolycomb Repressive Complex 1 (PRC1)に含まれるBMI1が、p53を抑制することで神経におけるアポトーシスと加齢により低下した抗酸化作用に依存する早期老化の抑制に働いていることが報告された。しかしポリコーム群タンパク質と細胞老化の関連については不明な点が多い。

申請者は近年、東北大学加齢医学研究所の加齢ゲノム制御プロテオーム研究部門の安井明先生と共にポリコーム群タンパク質のエピキチンE3-ligaseであるBMI1とRING1Bを、白血病の原因遺伝子であるENLの新規操作作用因子として同定した(Ui et al. *Molecular Cell*, 2015)。さらに、転写の近傍でDNA二重鎖切断が起きた時にENLとポリコーム群タンパク質が協調して働くことで、転写とDNA二重鎖切断修復の共役に機能し、染色体安定性に寄与しているという新たな機能を見出した。染色体安定性に寄与する因子は、細胞老化と深く関連することが古くから知られている。そこでポリコーム群タンパク質の染色体安定性に関わる機能を明らかにすることにより、新たな細胞老化のメカニズムの解明につながる可能性があり、加齢の基盤的研究につながると期待される。

そこで本研究では、加齢ゲノム制御プロテオーム研究部門の安井明先生の研究室で開発された下記の技術を用いて、ポリコーム群の染色体安定性に果たす役割と細胞老化との関連を明らかにすることを目

的としている。

(1)プロテオーム解析技術

(2)ゲノム損傷応答可視化システム

(3)転写とDNA二重鎖切断修復を可視化するシステム

上記の安井先生の研究室で開発された実験系を進めるために、安井明先生と打ち合わせを3回行った。一度は、加齢ゲノム制御プロテオーム研究部門にてセミナーとディスカッションを行った。残りの2回は3R symposium、染色体ワークショップにて行った。この際に、実験方針や実験を進めるための購入物品、実験結果の解釈と考察をディスカッションした。

[3] 成果

(3-1) 研究成果

(1) ポリコームのDNA二重鎖切断依存的な相互作用因子の同定

安井明教授の研究室が持つ(1)プロテオーム解析技術により、DNA二重鎖切断が起きた時のポリコーム群の因子の新規相互作用因子の同定を行い、染色体安定性に関与する因子との物理的な関連を明らかにする。このために、BMI1にFlagタグを付加した細胞を作成した。さらに今後は、DNA二重鎖切断を起こした際の相互作用因子を同定する予定である。

(2) ポリコーム因子のDNA二重鎖切断への集積の解析

安井明教授の研究室が持つ(2)ゲノム損傷応答可視化システムにより、ポリコーム群の因子のゲノム損傷における応答を明らかにし、染色体安定性での機能を明らかにする。BMI1にGFPタグを付加した発現プラスミドを作成した。U2OS細胞にこのプラスミドを発現させて、FV500を用いて、DNA二重鎖切断を発生させたところ、

(3) DNA二重鎖切断と転写の共役機構とポリコームの役割

安井明教授により開発された(3)転写とDNA二重鎖切断修復を可視化するシステムにより、転写とDNA

二重鎖切断修復の共役における機能を明らかにする。転写をイニシエーション、エロンゲーションのステップに分けて検出する方法を構築し開発した。この実験系を用いて、ポリコム因子が転写のステップでどのような挙動を示すのか、さらに DNA 二重鎖切断が生じた際のポリコムの挙動を解析中である。

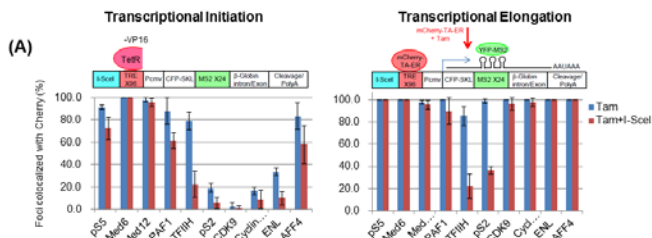


図 (A) 転写のイニシエーションとエロンゲーションを検出する実験系を構築した。

(3-2) 波及効果と発展性など

本共同研究では、安井明先生の協力のもと、新たな実験手法を取り入れることにより、ポリコム因子の転写と DNA 二重鎖切断応答における新たな役割が明らかになりつつある。この成果は、染色体ワークショップや、転写ワークショップで口頭発表するとともに、3R symposium、分子生物学会、遺伝研研究会等の学会にて、転写と DNA 修復研究の専門の先生たちとディスカッションを重ねることにより新たな実験系の開発に結び付き飛躍的に進化した。今後は、共同研究により開発された新たな実験系をもとに、ポリコムと染色体不安定性と老化のメカニズムの解明を進めていきたい。

[4] 成果資料

(1) UiA, Yasui A

Nucleus, 7, 138-45. 2016

Collaboration of MLLT1/ENL, Polycomb and ATM for transcription and genome instability.