

染色体の脆弱性を抑制できるエネルギー代謝機構の解明

[1] 組織

代表者：増本 博司
(長崎大学・医学部共同利用研究センター)
対応者：安井 明
(東北大学加齢医学研究所)
分担者：なし

研究費：物件費 21 万 8 千円，旅費 8 万 2 千円

[2] 研究経過

本研究では DNA 修復異常もしくはクロマチン構造維持異常に伴うゲノムの不安定化を抑制するエネルギー代謝の機能を明らかにすることを研究目的とした。

申請者は出芽酵母を研究材料に、その欠損によって DNA 修復遺伝子欠損によるゲノムの不安定化を回復できるエネルギー代謝関連遺伝子に着目した。申請者はヒストン H3 の 56 番目のリジンへの恒常的アセチル化を引き起こす NAD⁺依存性デアセチラーゼ *hst3 hst4* 二重遺伝子欠損株の DNA 損傷剤への高い感受性、つまり DNA 損傷修復機能の低下を、解糖系代謝酵素 GAPDH をコードする *tdh2* 遺伝子欠損によって部分的に抑制できることを見いだした (Hachinohe, M. et al., (2013) *PLoS One*, 8, e54011)。

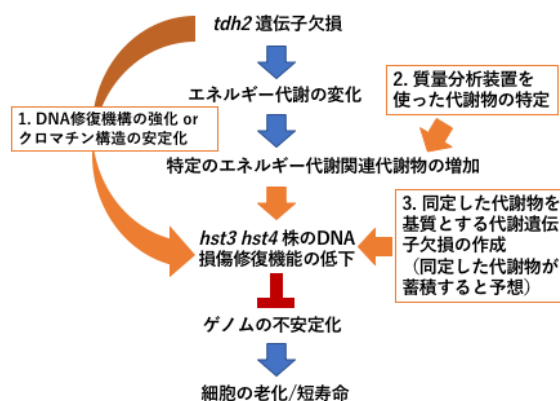
以下、研究の概要である (図 1)。

1. *tdh2* 遺伝子欠損によって *hst3 hst4* 欠損株で起こる H3-K56 のアセチル化レベルが変化するか調べた。さらに *tdh2* 欠損が *hst3 hst4* 欠損株で低下する DNA 修復能力を回復できるかどうか調べた。
2. *tdh2* 欠損によって増加するエネルギー代謝関連の代謝物を質量分析装置で同定した。
3. 同定した代謝物を基質とする代謝酵素遺伝子欠

損が、*tdh2* 欠損と同じく *hst3 hst4* 欠損株で低下する DNA 修復能力を回復できるかどうか調べた。

本研究の進展状況については、申請者が東北大・加齢医学研究所にて安井明教授と研究討論を行った (平成 30 年 2 月 22-23 日)。

図 1：研究の概要



[3] 成果

(3-1) 研究成果

本年度は、以下に示すような研究成果を得た。

まず第 1 に *tdh2* 欠損により *hst3 hst4* 細胞の染色体中のヒストン H3-K56 のアセチル化レベルへの影響を調べたところ、*hst3 hst4* 株及び *tdh2 hst3 hst4* 株間でヒストン H3 の 56 番目のリジンのアセチル化量に変化はなかった。このことは *tdh2* 欠損によるエネルギー代謝変化はクロマチンのアセチル化状態に影響を与えていないことを示している。

第 2 に、*tdh2* 欠損によって増減するエネルギー代謝由来の代謝物を Capillary electrophoresis-time of flight / mass-spectrometry (CE-TOF/MS) を用いて定量解析した。野生株もしくは *hst3 hst4* 株に対して、それぞれ *tdh2* 株もしくは *tdh2 hst3 hst4* 株で顕著に増加する代謝産物としてキノリン酸を同定した。キノリン酸はトリプトファンから新規に NAD⁺ を合成するキヌレニン経路の中間代謝産物の

一つである。キノリン酸を基質とする Quinolate phosphoribosyl transferase をコードする *qpt1* 遺伝子の欠損は、*tdh2* 欠損と同じく、*hst3 hst4* 株が示す DNA 損傷剤への感受性を相補することができた。

第3に、*hst3 hst4* 株の DNA 損傷剤感受性を相補する *tdh2* 欠損がクロマチン構造を安定させているのか調べた。その結果、*tdh2* 欠損は染色体上に存在するリピート配列間での不要な組換え機構を抑制していることがわかった。同様に *qpt1* 欠損でも同様にクロマチン上のリピート配列間での不要な組換えを抑制している結果を得られている抑制している。このことからキノリン酸がクロマチン構造の安定化に関与していることが示唆される。

(3-2) 波及効果と発展性など

解糖系を中心とするエネルギー代謝経路からは様々な代謝産物が生み出されているが、その生理的機能にはまだ未解明のものが多い。本研究ではキノリン酸がクロマチン構造の安定性、最終的にはゲノムの安定性に寄与していることを示している。ゲノムの不安定化は細胞の老化あるいはガン化につながっていくことから、キノリン酸をモデル分子としてクロマチン安定化による細胞あるいは生体の寿命延長効果、あるいは細胞のガン化抑制剤の開発が期待される。

[4] 成果資料

- ① Shimamoto, Y. Tamura, S. Masumoto, H. and Maeshima, K., Nucleosome-nucleosome interactions via histone tails and linker DNA regulate rigidity. *Molecular Biology of Cell*, 28, 11, 1580-1589, 2017.
- ② Kubo, Y. Masumoto, H., Izumida, M., Kakoki, K. Hayashi, H. Matsuyama, T.: Rab3a-Bound CD63 Is Degraded and Rab3a-Free CD63 Is Incorporated into HIV-1 Particles. *Frontiers in Microbiology*, 8, Article 1653, 2017

<産業財産権>

発命名：多重遺伝子導入手法

番号：特願 2017-097706

日時：2017. 5. 16 出願

特許出願中