

課題番号 63

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 300,000 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与す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。近年、申請者は貴施設の加齢フェローの安井明先生と共に、白血病の原因遺伝子であるENLの新規相互作用因子として、ポリコーム群タンパク質のコビキチンE3-ligaseであるBMI1とRING1Bを同定し、これらが転写の近傍でDNA二重鎖切断が起きた際に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、染色体不安定性に寄与していることを見出した (Ui et al., Mol Cell, 2015; Ui et al., Nucleus, 2016)。老化は染色体不安定性と深く関連することが古くから知られている。そこで本研究は、ポリコーム群タンパク質の染色体不安定性の機能と老化のメカニズムの解明を目的とする。

具体的には以下の解析を行う。

① 安井明先生の研究室が持つ(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、染色体不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。

②安井明先生の研究室が持つ共焦点レーザー顕微鏡を用いた(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、染色体不安定性での機能を明らかにする。上記で新規遺伝子が見つかった場合には、それらについても解析を行う。

③安井明先生により開発された(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。さらに他の転写因子やDNA二重鎖切断修復因子との関連、DNA損傷剤に対する感受性、細胞老化への関与などを明らかにすることにより、染色体不安定性と細胞老化への関与を明らかにする。

[3] 成果

(3-1) 研究成果

(1) プロテオーム解析技術による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

安井明先生の研究室が持つ(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、染色体不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ため、今後は、放射線照射により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) 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

安井明先生の研究室が持つ(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、染色体不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。今後は、細胞にこのプラスミドを発現させて、FV500を用いて、段階的にDNA二重鎖切断を発生させたところ、BMI1はDNA二重鎖切断を生じる条件で、DNA二重鎖切断部位に集積した。

(3) 転写と DNA 二重鎖切断修復を可視化するシステムによる転写と DNA 二重鎖切断修復の共役における機能の解析

Nucleosome remodeling, DNA repair and transcriptional regulation build negative feedback loops in cancer and cellular aging.

転写と DNA 二重鎖切断修復を可視化するシステム (図 1) により、転写と DNA 二重鎖切断修復の関連性を解析した。ポリコームの BMI1 をノックダウンしたところ、DNA 二重鎖切断存在下で転写の開始 (イニシエーション) と伸長 (エロンゲーション) において転写制御を行っていることが明らかになった。

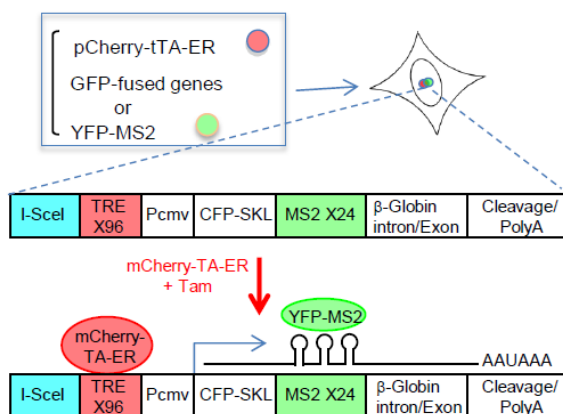


図 1 転写と DNA 二重鎖切断修復を可視化するシステム

(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、安井先生の研究室が専門とするプロテオーム解析技術、また安井先生の研究室において開発された、レーザー顕微鏡を用いたゲノム損傷応答可視化システム、転写と DNA 二重鎖切断修復を可視化するシステム新たな実験手法を取り入れることにより、ポリコーム因子の DNA 損傷応答と、転写と DNA 二重鎖切断修復における新たな役割が明らかになりつつある。今回、ポリコームの BMI1 が DNA 損傷でも特に DNA 二重鎖切断に反応すること、転写中に起きた DNA 二重鎖切断に反応して、転写の開始 (イニシエーション) と伸長 (エロンゲーション) を制御することが明らかになった。今後も、共同研究により開発された新たな実験系をもとに、ポリコー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) Watanabe R, Kanno S, Mohamadi A, Ui A, Yasui A. *Philos. Trans. Biology*, 372, 1731. 2017