

課題番号 18

メディエーター転写複合体による DNA 損傷修復機構の解明

[1] 組織

代表者：高橋 秀尚

(横浜市立大学・大学院医学研究科・
分子生物学教室)

対応者：宇井 彩子

(東北大学加齢医学研究所)

分担者：鈴木 秀文

(横浜市立大学・大学院医学研究科・
分子生物学教室)

伊藤 清香

(横浜市立大学・大学院医学研究科・
分子生物学教室)

研究費：物件費 20 万円

[2] 研究経過

生体はストレス刺激を受けると、それは様々な伝搬様式によって最終的に細胞に伝達される。ストレス刺激を受容した細胞は、ストレスに対応するために必要な遺伝子の発現を促進する。申請者はこれまでに、ストレス応答の転写において必須な役割を果たすメディエーター複合体のコンポーネント MED26 の機能解析を行ってきた。MED26 は熱ストレス、酸化ストレス、低酸素ストレス、DNA 損傷ストレスなどの様々なストレス刺激において、その応答に必要な遺伝子の転写を促進する機能を果たす。

最近、申請者は MED26 を含むメディエーター複合体が RNA ポリメラーゼ II (Pol II) と安定な複合体を形成し、DNA 損傷ストレスの際に、DNA 損傷領域に Pol II を運ぶことによって、そこで転写を誘導することを明らかとした (図参照)。さらに、MED26 タンパク質は約 70% ほどの天然変性領域 (Intrinsic disordered region: IDR) を有しており、DNA 損傷領域に集積する際には液滴を形成し、機能することがわかってきた。そこで本研究では、下記の項目の研究を行うが、宇井准教授には主に(iii)をご担当頂く。

(i) MED26 により形成される DNA 損傷部位の液滴の形成機構を分子レベルで解明する。

(ii) MED26 の IDR 領域を欠損、あるいは変異を導入した細胞株を作製し、DNA 損傷修復応答における転写の役割を明らかにする。

(iii) DNA 損傷応答下で免疫沈降を行い、MED26 新規相互作用因子を質量分析により同定する。

本共同研究に関しては、年に数回ほど宇井准教授と対面やオンラインで打ち合わせを行いながら進めてきた。

[3] 成果

(3-1) 研究成果

MED26 の DSB への関与を明らかにするために、宇井准教授が保有している相同組み換え (Homologous recombination; HR) の活性を検出できる実験系を用いて HR 活性を測定した。この実験系では、HR が起こると GFP が発現し、そちらを Flow cytometry で検出することにより HR の活性の測定をできる。その結果、MED26 の siRNA を使用してタンパク質を減少させた細胞では、コントロール細胞に比べて HR 活性が減少することから、MED26 が HR に機能する可能性が見出された (図 1)。

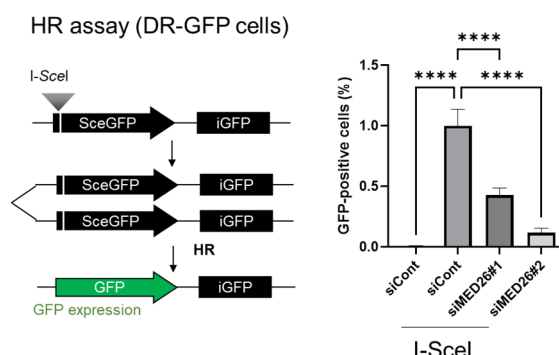


図 1. MED26 タンパク質は HR を促進する可能性がある。

さらにレーザー顕微鏡を使用して、MED26 が DNA 損傷に反応するかどうかを検討した。その結果、MED26 は 40 秒という早い時間で DNA 損傷に応答する可能性が示された (図 2)。

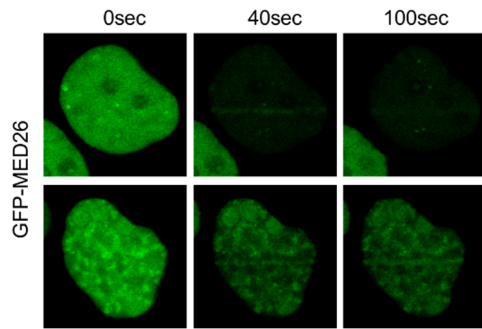


図 2. MED26 タンパク質は DNA 損傷領域に応答する。

今後は、MED26 がどのように DNA 修復に関与するのか、その IDR 領域の関与や相互作用因子を調べることにより明らかにしたい。

（3－2）波及効果と発展性など

MED26 は酸化ストレスや DNA 損傷ストレスなどの様々なストレス刺激において、その応答に必要な遺伝子の転写を促進する機能を果たすと考えられており、細胞の機能維持に重要なタンパク質である。しかし、その機能の詳細は不明な点が多い。今後 MED26 の機能を明らかにすることにより、ストレス応答に対する細胞の転写制御のメカニズムの解明が期待されると共に、転写制御が高頻度に異常となっているがん細胞における治療戦略の基盤的な研究につながると考えられる。

〔4〕 成果資料

本研究の成果は、染色体ワークショップにおいて発表した。今後は成果がまとまり次第、論文発表を行う予定である。

DNA 損傷応答における MED26 の機能解明，伊藤清香，鈴木秀文，宇井彩子，高橋秀尚，染色体ワークショップ，2024