

DNA の切断から遺伝情報を守るメカニズムの解明

佐々木 真理子 (ゲノム再生研究分野)

小林 武彦 (ゲノム再生研究分野)

Molecular Cell (2017年5月18日) DOI 番号 : 10.1016/j.molcel.2017.04.020

発表のポイント

- ◆Ctf4 という DNA の複製に働くタンパク質が、DNA の切断を正確に修復し遺伝情報 (ゲノム) を守る働きがあることを明らかにしました。
- ◆DNA の切断は、これまで知られていなかった方法により直され、ゲノムの異常が起こるのを防いでいることを明らかにしました。
- ◆本研究成果は、ゲノムの異常の発生を低下させ、老化やがんを抑制するメカニズムの解明に重要な糸口となると考えられます。

発表概要 :

私たちの体は、数十兆個もの細胞からできています。たった一つの受精卵からこれだけの数の細胞を作り出すためには、遺伝情報を担う DNA (注1) を複製によって正しくコピーしそれを娘細胞に受け渡すことが大切です。DNA 複製の途中でトラブル (停止) が起きると、DNA の切断 (DNA 二本鎖切断) (注2) が引き起こされ、遺伝情報が壊れることにより、がんや多くの疾患の原因となるゲノムの異常を引き起こします。しかし、これまでこの切断された DNA を修復するメカニズムはよく分かっていませんでした。

今回、東京大学分子細胞生物学研究所の小林武彦教授と佐々木真理子助教は、複製時に形成される DNA の切断とその修復の過程を直接観察する実験系を確立しました。この実験系を用いて様々な因子の関与を検証した結果、Ctf4 という DNA 複製をになうタンパク質 (注3) の1つが、DNA の切断の修復に必要であることが明らかになりました。

切断された DNA の修復がうまくいかないとゲノムの異常を引き起こし、老化やがんの原因となります。本研究成果は、細胞の老化やがん化がなぜおこるのかを解明する重要な手がかりになると考えられます。

発表内容 :

私たちの体は、一つの受精卵が幾重にも細胞分裂を繰り返してできた数十兆個の細胞からできています。この繰り返される分裂の過程で最大のイベントは、生物の設計図である遺伝情報 (ゲノム) を担う DNA を正しくコピー (複製) し、それらを娘細胞に受け渡すことです。しかし DNA は長い糸状の構造を持っており、傷があったり、タンパク質が結合していたり多種多様な「障害物」が存在します (図1)。そのため DNA の複製は頻繁に途中で止まってしまい、そこで DNA の切断 (DNA 二本鎖切断) が起こってしまいます (図2)。切れた DNA の修復がうまくいかないと、ゲノムが異常になりがんや多くの疾患の原因となります。そのため切断された DNA は正しく修復されなければいけませんが、そのメカニズムはよく分かっていませんでした。

DNA 複製時以外、例えば切断酵素などでおこる DNA の切断は、相同組換え修復経路 (注5) によって修復されることが分かっています。しかし複製障害時におこる DNA の切断について

は、特定場所でこの切断を誘導できる実験系がなかったため研究はほとんど行われていませんでした。そのため多くの研究者が、複製障害時の DNA の切断は相同組換え修復経路によって修復されるのであろうと信じてきました。今回、本研究グループは、この定説を検証するために複製障害時に形成される DNA の切断を直接解析することを試みました。

出芽酵母のゲノムには、リボソーム RNA 遺伝子 (rDNA) が 100–200 コピーも連なった領域が存在します。rDNA 領域では、タンパク質の結合により特定部位で且つ高頻度で複製障害が起き、DNA の切断も高頻度で引き起こされることが分かっていました。しかしその修復機構に関する研究は手つかずの状態でした。本研究グループは、rDNA 領域こそ複製障害時の DNA 切断修復機構を解明するための最良のモデル領域であると考え、複製障害の結果生じる DNA の切断およびその修復の途中段階を、時間を追って解析する実験系を確立しました。そしてこの系を用いて、切れた DNA の修復に関与しうる様々な因子の関与を調べました。

その結果 DNA の切断の修復は、通常の相同組換え因子を必要としない新規修復経路によって行われるという、これまでの概念を覆す結果を得ました。さらに Ctf4 という複製装置の構成因子を無くさせると、DNA の切断修復経路が変更され、従来の相同組換えによって修復されるということが明らかになりました (図 2)。興味深いことに、Ctf4 を失った株では、切れたところが別の場所とつながり、rDNA 配列の異常増幅が起きました。これらの結果は、複製の障害による DNA の切断に対して相同組換え修復が用いられると、ゲノムの異常が生じやすいということを示しています。つまり通常 Ctf4 タンパク質は相同組換え経路を抑制し、ゲノム安定化を維持するための重要な働きを担っていることが明らかとなりました。

DNA 複製時は、最も DNA の切断が起こりやすく、ゲノムが壊れやすい時です。切断された DNA が正確に修復されなければ、ゲノムの異常を引き起こします。そしてこのゲノム異常は、時に細胞を癌化させます。本研究では、細胞が癌化する初期の機構を明らかにするための重要な手がかりになると考えられます。

また DNA 複製を人為的に阻害する薬剤 (複製阻害剤) は、複製障害そして切断を引き起こし、細胞死を誘導することから抗がん剤 (注 4) として用いられています。多くのがん細胞は、やがて薬剤への耐性能を獲得し、抗がん剤の効果が低下することから、新規がん治療法の開発が求められています。その一つとして、複製阻害剤と DNA 切断修復経路をブロックする薬剤を併用することによって、がん細胞の増殖を効果的に抑制することができるのではないかと期待されています。本研究成果により、複製障害時の DNA 切断は、これまで予想されていなかった新規経路によって修復されることが判りました。今後、この新規修復経路の全貌を明らかにしていきたいと考えています。複製時に切れた DNA の修復機構が明らかになれば、その経路をブロックする薬剤の開発にも繋がり、新規がん治療法の開発に大きく貢献できると期待されます。

発表雑誌：

雑誌名：Molecular Cell

論文タイトル：Ctf4 prevents genome rearrangements by suppressing DNA double-strand break formation and its end resection at arrested replication forks

著者：Mariko Sasaki and Takehiko Kobayashi*

DOI 番号：10.1016/j.molcel.2017.04.020

問い合わせ先：

東京大学分子細胞生物学研究所 ゲノム再生研究分野

教授 小林 武彦 (こばやし たけひこ)

東京大学分子細胞生物学研究所 ゲノム再生研究分野

助教 佐々木 真理子 (ささき まりこ)

用語解説：

(注1) DNA : deoxyribonucleic acids の略で、ディーエヌエーと読む。A (アデニン)、T (チミン)、G (グアニン)、C (シトシン) の4つの塩基からなり、遺伝情報をコードする物質である。

(注2) DNA 二本 (重) 鎖切断 : DNA double-strand break (DSB)。細胞内では二本の DNA の鎖がらせん構造をとっている。DSB とは、この二本の鎖が切れた時にできる DNA 損傷を指す。DNA が物理的に分断されてしまうため、最も危険な DNA 損傷と考えられている。

(注3) 複製装置 : DNA 複製を担う巨大なタンパク質複合体。複製装置の大きな役割としては、鋳型鎖である二本鎖 DNA をほどこき、鋳型鎖と相補的な DNA を合成することである。

(注4) 抗がん剤 : がん治療 (化学療法) で用いられる薬剤。通常、体内のほとんどの細胞は分裂が抑えられているにもかかわらず、癌細胞は活発に増殖する。この特性を利用して、抗がん剤の多くは、増殖細胞を積極的に攻撃する薬剤が用いられている。

(注5) 相同組換え修復経路 : 切断された二本鎖 DNA の修復経路の一つ。体細胞の分裂周期では DNA 複製期の次のステップである G2/M 期において、また減数分裂期においては DSB の修復に必要な経路である。相同組み換え修復では、切断された二本鎖 DNA を姉妹染色分体あるいは相同染色体上の同一配列を鋳型として修復することから、通常切れた配列を元どおりに戻す正確な修復機構と考えられている。

添付資料：

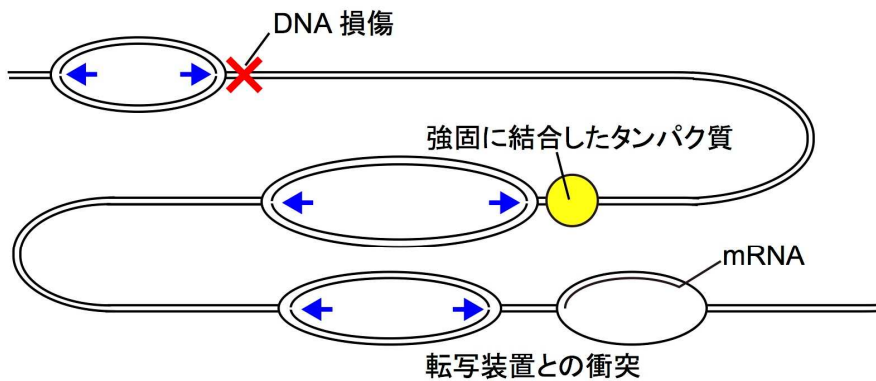


図1. DNA複製を阻害する様々な障害

DNA複製の鋳型となるDNA上にはDNA損傷や強固に結合したタンパク質、進行中の転写装置などの障害が存在する。複製装置（青色の矢印）がこれらの障害にぶつくとそこで複製がストップし、DNA二重鎖切断(DNA double-strand breaks, DSB)が形成される。

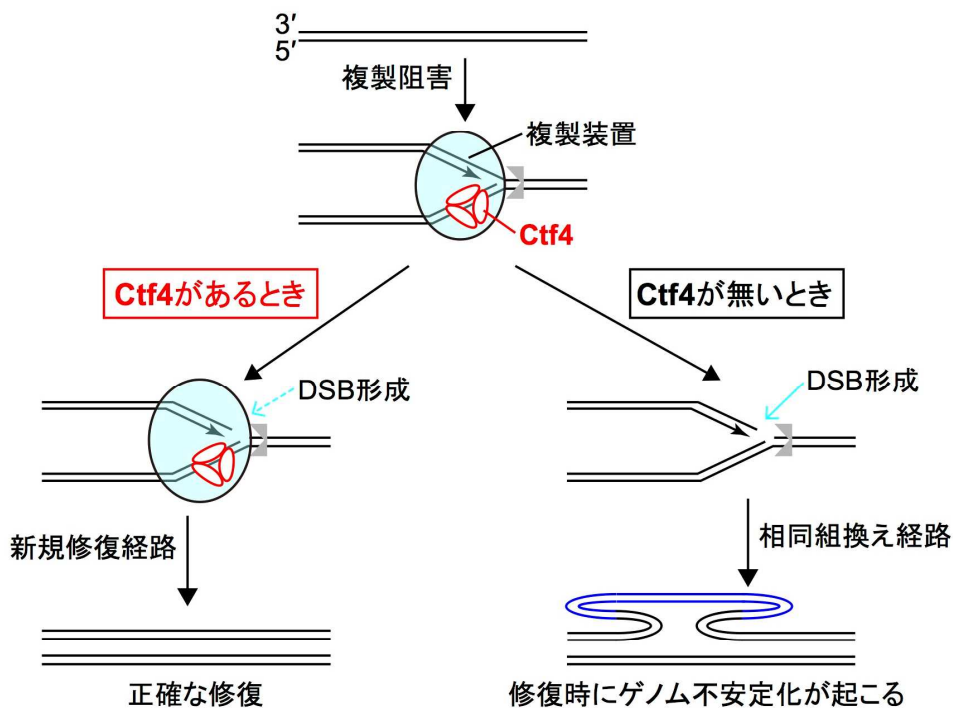


図2. DNA複製阻害時に形成されるDSB修復経路

DNA複製装置の進行が妨げられると、DSBが形成される。複製装置の構成因子であるCtf4タンパク質が存在しない時は、このDSBは相同組換え経路によって修復されるが、ゲノム不安定化が起こる。一方で、Ctf4タンパク質が存在する時は、新規修復経路によって正確にDSBが修復される。