

DNA 2 本鎖が切断された場所に修復タンパク質が集まる仕組み

深井 周也 (蛋白質複合体解析研究分野 准教授)

中田慎一郎 (大阪大学 高等共創研究院/大学院医学系研究科 細胞応答制御学 教授)

Nature Communications (イギリス時間: 1月12日(金) 午前10時、日本時間1月12日(金) 午後7時)

DOI 番号: 10.1038/s41467-017-02345-y

発表のポイント:

◆DNA 2 本鎖の切断を修復するために必要なタンパク質 RNF168 (注1) が DNA 損傷部位に集まる仕組みを明らかにしました。

◆RNF168 が複数の機能ユニットを利用して DNA 損傷部位の目印となるユビキチン鎖 (注2) を認識する分子機構を明らかにしました。

◆本成果は、DNA 2 本鎖切断の修復で重要な一過程の分子機構を明らかにしたもので、細胞のがん化や放射線感受性を抑えるための基盤となる知見になると期待されます。

発表概要:

東京大学分子細胞生物学研究所 (所長 白髭克彦) の深井周也准教授、大阪大学の中田慎一郎教授 (高等共創研究院/大学院医学系研究科) らの研究グループは、DNA 2 本鎖の切断を修復するために必要なタンパク質 RNF168 が二つのユビキチン鎖認識ドメイン (UDM1 および UDM2) を介してユビキチン鎖を認識して DNA 損傷部位に集まる仕組みを明らかにしました (図1)。これまでの研究により、RNF168 に含まれる UDM1 と UDM2 の二つの領域がユビキチンの認識に関与していることが示唆されていましたが、この二つの領域内に含まれるどの機能ユニットがユビキチンを直接認識しているのかは不明でした。深井准教授らの研究グループは、UDM1 および UDM2 がユビキチン鎖と結合した状態の立体構造を決定し、さらに分子・細胞レベルでの変異体解析を行うことで、新たな機能ユニットを含む複数の機能ユニットがユビキチン鎖を認識する様子を明らかにしました。本研究成果は、DNA 2 本鎖切断の修復で重要な一過程の分子機構を明らかにしたもので、細胞のがん化や放射線感受性を抑えるための基盤となる知見になると期待されます。

発表内容:

【研究の背景】

最も重篤な DNA 損傷の一つである DNA 2 本鎖の切断は複数の反応過程を経て修復されます。DNA は通常、四種類のコアヒストンタンパク質が二つずつ入ったヒストン八量体に巻きついた状態で存在します。ヒストン八量体とそれに巻きついた DNA を一単位とした構造をヌクレオソームと呼び、ヌクレオソームが数珠状につながった構造をクロマチンと呼びます。DNA 2 本鎖切断の修復過程では、切断部位周辺のクロマチンでリン酸化が起き、次に、シグナルタンパク質であるユビキチンが付加 (ユビキチン化) された後に、それを目印として 53BP1 や BRCA1 といった修復タンパク質が集積してくることがわかっています (図1)。ユビキチンは、自身にユビキチンが付加することで数珠つなぎの鎖 (ユビキチン鎖) を形成して機能する例が多く知られていますが、DNA 2 本鎖切断の修復過程でもユビキチン鎖が形成されます。DNA 2 本鎖切断の修復過程での損傷クロマチンのユビキチン化では、ユビキチン

付加酵素である RNF168 が必須な役割を担い、53BP1 や BRCA1 に加えて RNF168 自身もユビキチン鎖を目印として集積することがわかっていました。RNF168 には、ユビキチンと結合する領域が複数知られていますが、それらのうちの領域がどのようにユビキチン単独あるいはユビキチン鎖と結合するのか、また、どう使い分けがなされているのかは不明でした。

【研究内容】

これまでの研究により、損傷クロマチンの目印として 63 番目のリジン残基 (K63) を介してつながったユビキチン鎖 (K63 鎖) が必要であることがわかっています。研究グループは、RNF168 に含まれる既知のユビキチン結合ドメインに着目して、複数の生物種間でのアミノ酸配列の保存性も考慮に入れながら、精製タンパクの結合実験により、K63 鎖選択的な結合に必要な領域を探りました。その結果、アミノ末端側に存在する UDM1 と呼ぶ領域とカルボキシ末端側に存在する UDM2 と呼ぶ二つの領域に K63 鎖選択的な結合に必要な機能ユニットを同定しました。

UDM1 には、UMI と MIU1 という二つの直列したユビキチン結合ユニットが知られており、これまでは、この二つの結合ユニットが協働して K63 鎖と選択的に結合すると考えられてきました。今回、研究グループの解析により、MIU1 は K63 鎖選択的な結合には不要であり、むしろ、UMI の N 末端側に存在する LRM と呼ばれるユニットが UMI と協働して K63 鎖と選択的に結合することが新たに判明しました。一方、UDM2 は K63 鎖に選択的に結合するにも関わらず、MIU2 というユビキチン結合ユニットのみでは K63 鎖への選択性はないことがわかっていました。本研究において、研究グループは、UAD と名付けた新たなユニットが MIU2 と協働して K63 鎖選択的に結合することを新たに見出しました。

さらに、大型放射光施設 SPring-8 (兵庫県佐用郡) の高輝度 X 線を利用して UDM1 および UDM2 と K63 鎖との複合体の結晶構造を解析し、UDM1 中の LRM-UMI および UDM2 中の UAD-MIU2 が K63 鎖と相互作用する様子を高解像度で明らかにしました。また、ヒト由来細胞株を用いた実験により、ユビキチン鎖との結合に必要なドメインの変異体は DNA 損傷部位に蓄積しないことが示され、タンパク結合実験の結果や決定した立体構造が、生きた細胞でも当てはまることが実証されました。

【社会的意義と今後の予定】

RNF168 は、K63 鎖と相互作用するだけではなく、ヒストンタンパク質とも相互作用することが示唆されていますが、その詳細な仕組みはわかっていません。また、RNF168 が触媒するヒストンのユビキチン化反応と K63 鎖との結合の関連や、もう一つの重要なユビキチン付加酵素である RNF8 との機能的役割の違いなども立体構造に基づいた理解は明確にされていません。今後は、損傷クロマチン上での RNF168 の立体構造を知ることで、ヒストンのユビキチン化の反応状態を明らかにする研究が必要です。

発表雑誌：

雑誌名：Nature Communications (オンライン版 1 月 12 日掲載)

論文タイトル：Structural insights into two distinct binding modules for Lys63-linked polyubiquitin chains in RNF168

著者：Tomio S. Takahashi, Yoshihiro Hirade, Aya Toma, Yusuke Sato, Atsushi Yamagata, Sakurako Goto-Ito, Akiko Tomita, Shinichiro Nakada* and Shuya Fukai*
DOI 番号：10.1038/s41467-017-02345-y

問い合わせ先：

東京大学分子細胞生物学研究所 蛋白質複合体解析研究分野
准教授 深井 周也 (ふかい しゅうや)

大阪大学 高等共創研究院/大学院医学系研究科 細胞応答制御学
教授 中田 慎一郎 (なかだ しんいちろう)

用語解説：

(注1) RNF168：DNA 2本鎖切断の修復に必須なタンパク質の一つ。DNA 損傷部位の目印となるユビキチン（酵母からヒトまで保存された小さな球状タンパク質。シグナル分子として多様な細胞機能を制御する）を付加する酵素活性を持つ。

(注2) ユビキチン鎖：ユビキチンは、基本的に標的タンパク質の特定のリジン残基に共有結合を介して付加される。ユビキチン自身も標的タンパク質の一つであり、ユビキチン同士が結合して数珠つなぎになったものをユビキチン鎖と呼ぶ。

添付資料

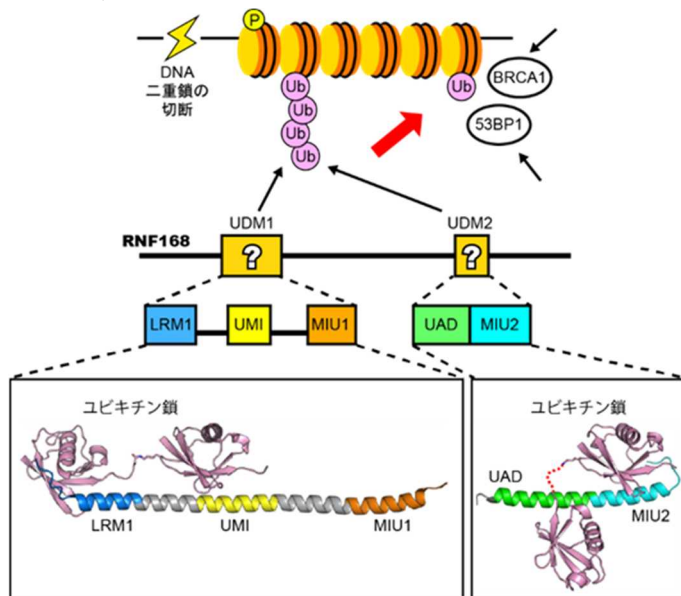


図1 DNA 2本鎖切断の修復における RNF168 の働き