

令和元年 10 月 7 日

報道機関 各位

東北大学 学際科学フロンティア研究所
東北大学 大学院生命科学研究所

線虫の発生過程，生殖細胞形成における DNA 損傷バイパス機構の役割

【発表のポイント】

- ◇ 線虫 *Caenorhabditis elegans* を用いて DNA 複製装置のパーツである複製クランプのユビキチン化が，DNA 損傷存在下で個体発生の進行を維持する上で重要である事を示しました。
- ◇ DNA 損傷チェックポイントの機能が低下し，複製クランプの修飾が起きない場合，正常に生殖細胞が形成されないことを示しました。

【概要】

細胞の増殖とともに，生体の遺伝情報を記述されたゲノム DNA は正確，かつ，素早くコピーされる必要があります，あらゆる生物が精巧な DNA 複製の仕組みを持ちます。DNA 複製中には，様々な酵素が機能する必要があります，複製クランプは多くの酵素の DNA 上での足場となり，酵素が効率良く機能するために必要不可欠です。複製クランプは，ドーナツ状の構造をとり，DNA 上を糸に通した輪の様に移動可能であり，複製クランプとともに，DNA を合成する酵素 (DNA ポリメラーゼ) がスライドし，スムーズな DNA 合成が起きます。特に，複製クランプがユビキチン化された際には，DNA 損傷を乗り越えて合成を行う DNA ポリメラーゼが複製の場へ導かれます (図1)。しかし，この損傷乗り越えるポリメラーゼによる DNA 合成は誤りがちであるため突然変異の原因となるので，我々の体内では適切に制御される必要があります。

東北大学学際科学フロンティア研究所の大学保一助教 (生命科学研究所兼任) は，生命科学研究所分子遺伝生理分野・博士後期課程大学院生の邵震華氏及び東谷篤志教授，学際科学フロンティア研究所の丹羽伸介准教授らとともに，線虫 *Caenorhabditis elegans* を用いて，DNA 損傷乗り越えの機能が低下した際に，個体発生，生殖細胞形成に及ぼす影響を明らかにしました。この研究は，発生過程，組織形成・維持に伴う細胞分裂の際に，誤りがちな DNA 合成が関与することを示すと同時に，多細胞生物での DNA 損傷乗り越え機構の役割を解析する上で，線虫が有用なモデルと成ることを示しました。

本研究の成果は、DNA repair 誌2019年10月号(vol. 82)に掲載されました。
 Z. Shao, S. Niwa, A. Higashitani, Y. Daigaku, Vital roles of PCNA K165 modification during *C. elegans* gametogenesis and embryogenesis. DNA Repair, 82, 102688, 2019

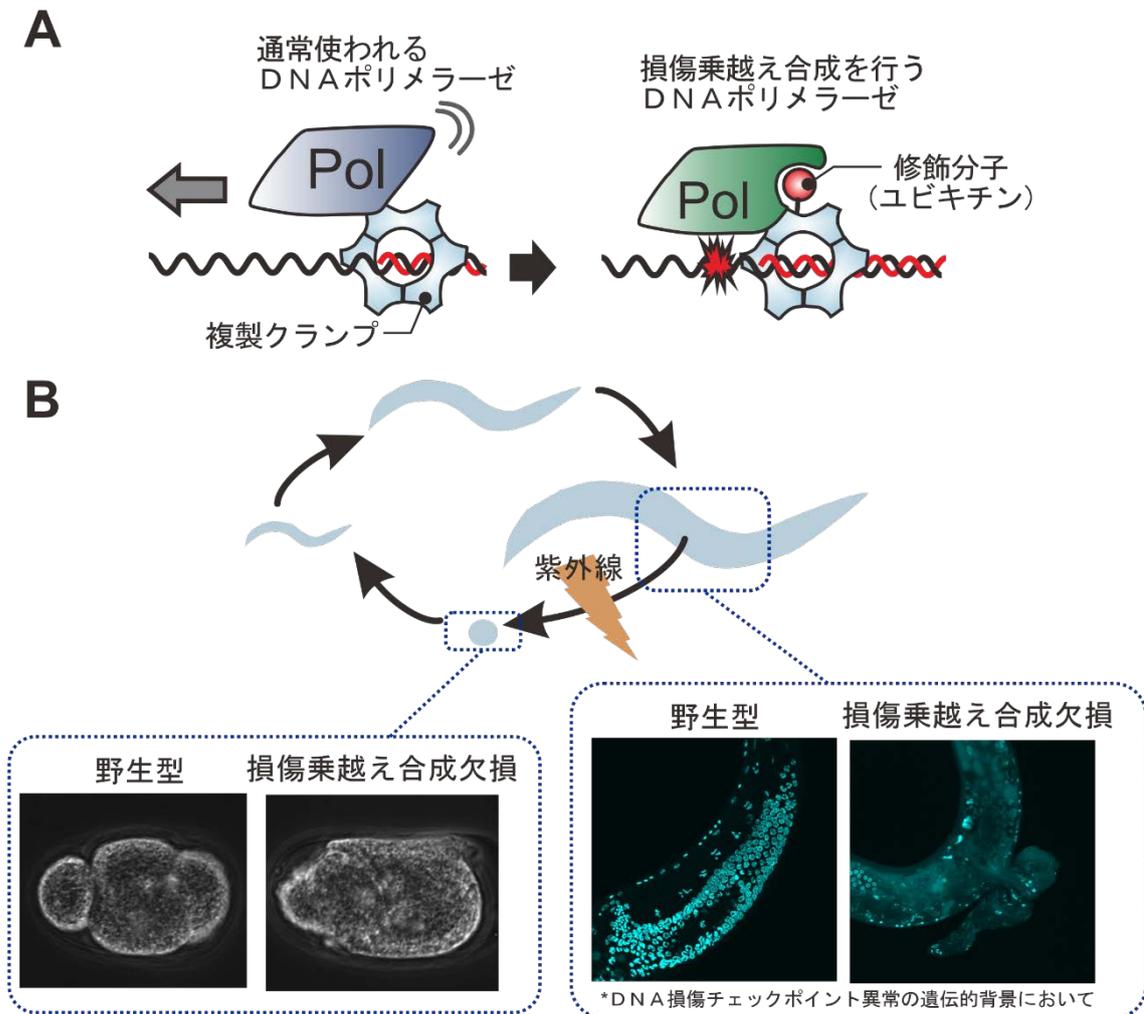


図1 (A)ドーナツ状分子, 複製クランプの修飾により, 損傷乗越え合成を行う DNA ポリメラーゼが DNA 複製の場に呼び込まれる仕組み. (B)線虫において, 複製クランプの分子修飾(ユビキチン化)が起きない場合, 胚発生(左), および, 生殖細胞形成(右)中の細胞分裂に異常が生じる.

【背景】

生体の設計図であるゲノムDNAは、アデニン(A)、チミン(T)、シトシン(C)、グアニン(G)の塩基配列からなる大量の情報(ヒト, 30 億塩基対)を含蓄する, 莫大な分子です. 細胞が増殖する際には, 限られた時間内にゲノム複製が完了する必要があり, あらゆる生物が精巧な DNA 複製システムを持っています

真核生物の複製クランプである PCNA^{*1} はドーナツ状の構造をしています. RFC 複合体^{*2} により, 生体エネルギー依存的にその輪が開かれ, PCNA は DNA 上に載り, 穴に糸が通ったリングの様にスライドすることができます. この PCNA と DNA ポリメラーゼを含めた多くの酵素が物理的に相互作用し, DNA 複製に関わる酵素が効率的に機能することができます. また, PCNA はユビキチン^{*3} などの小さなタンパク質により修飾されます. 現在までに, DNA 損傷などにより合成反応が滞った時に, PCNA のユビキチン化が誘導され, そのユビキチン化した PCNA を足場として, DNA 損傷を乗り越えて合成を行える DNA ポリメラーゼが機能することが知られていました. しかし, 損傷を乗り越える合成は誤りがちな DNA 合成であり, 我々の体内では適切に制御される必要があります.

【研究成果】

本研究は, 線虫 *Caenorhabditis elegans* を使用して, 多細胞生物での発生過程や生殖細胞形成における DNA 損傷乗り越え機構の役割を明らかにすることを目的として実施されました. そのために, CRISPR/Cas9 を使用したゲノム編集により, PCNA ユビキチン化部位に変異を導入し, 通常の DNA 複製は影響をうけず, DNA 損傷を乗り越える合成の誘導のみが阻害された線虫株を作成しました. この変異線虫株に紫外線を照射し DNA 損傷形成を誘導した場合, 野生型に比べて, 発生初期の卵からの孵化, その後の幼生の発達がより顕著に阻害されました. この結果から, 個体発生の一連の過程を通して, DNA 損傷乗り越え機構が機能していることが明らかになりました(図2A). また, DNA 損傷存在下で細胞周期を制御する DNA 損傷チェックポイントの機能が低下した状態で, PCNA のユビキチン化が起きない場合は, 正常な生殖細胞形成が行われないことも明らかにしました. この結果は, 生殖細胞形成の前過程で活発に細胞が増殖するために, 複製クランプのユビキチン化に依存した円滑な DNA 複製が維持される必要があることを示します.

【用語説明】

*1, PCNA

Proliferating cell nuclear antigen の略. 増殖する細胞の DNA 合成期に核に現れる抗原として発見された. 同一の3つタンパク質でドーナツ状の構造を成す.

*2, RFC 複合体

Replication factor C. RFC1, RFC2, RFC3, RFC4, RFC5 からなる5つのタンパク質から成る. 生体エネルギーの元である ATP を分解する活性をもち, PCNA の結合, 環状

構造を歪めることでの開環, DNA 上へ乗せる反応過程に ATP の結合, および, 加水分解が必要である.

*3, ユビキチン

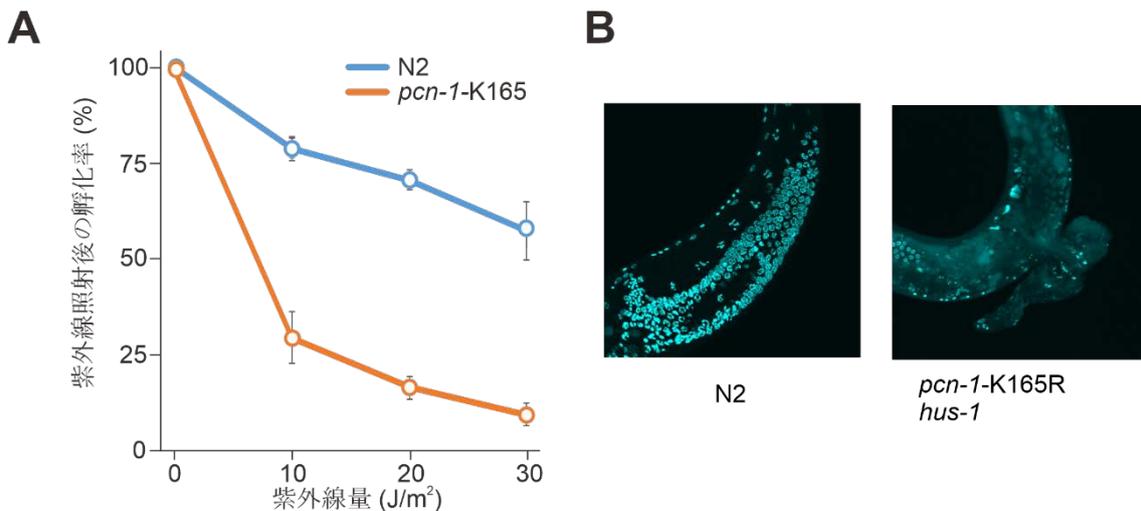
他のタンパク質の修飾に用いられる小さなタンパク質. ユビキチン化されたタンパク質分解を誘導する役割が良く知られているが, PCNA のユビキチン化は分解経路には関わらない.

*4, CRISPR/Cas9

ゲノム上の任意の位置を切断する分子で, 特定の部位に遺伝子改変に用いられる.

【研究助成資金等】

- 日本学術振興会 科学研究費補助金 若手研究(A) 「DNA複製におけるポリメラーゼ群の協調的機能のゲノム科学的解析」(研究代表 大学保一)
- 日本学術振興会 科学研究費補助金 新学術領域研究 「宇宙からひも解く新たな生命制御機構の統合的理解」 (研究代表 東谷篤志)



【図2】

(A) 成虫である線虫に紫外線を照射し, その後, 産み落とされた卵の孵化率. N2: 野生株, *pcn1-k165R*: PCNAのユビキチン部位が変異した株. (B) 線虫個体の生殖細胞形成部位のDNAをHoechst® 33342で染色後, 顕微鏡観察をおこなった. 水色: DNA, *pcn1-k165 hus1*: PCNAのユビキチン部位が変異し, DNA損傷チェックポイントの機能が低下した線虫系統. この系統では, 生殖細胞が形成されるべき領域でDNAが存在せず, 生殖細胞が正常に形成されていない.

【論文題目】

Vital roles of PCNA K165 modification during *C. elegans* gametogenesis and

embryogenesis.

【著者】

Z. Shao, S. Niwa, A. Higashitani, Y. Daigaku*

(* 責任著者)

【雑誌】

DNA Repair

82, 102688, 2019

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1568786419301491>

【問い合わせ先】

(研究に関すること)

東北大学 学際科学フロンティア研究所
新領域創成研究部

担当 大学 保一 (だいがく やすかず)

電話 022-217-5745

E-mail daigaku@tohoku.ac.jp

(報道に関すること)

東北大学 学際科学フロンティア研究所
企画部

担当 鈴木 一行 (すずき かずゆき)

電話 022-795-4353

E-mail suzukik@fris.tohoku.ac.jp