

【基盤研究(S)】

生物系 (医歯薬学)



研究課題名 AID の RNA 編集機構による抗体の多様化とゲノム不安定化の制御機構

京都大学・大学院医学研究科・客員教授 ほんじよ たすく
本席 佑

研究課題番号： 15H05784 研究者番号： 80090504

研究分野： 医歯薬学

キーワード： DNA 切断、組換え、獲得免疫、免疫記憶

【研究の背景・目的】

AID は、ワクチンの有効性を保証する獲得免疫における抗体多様化とその記憶形成の中心酵素である。AID は、Top1 を介して抗体遺伝子の体細胞突然異とクラススイッチを行う一方、ミスターゲットによるゲノム不安定性を誘発する。本研究においては AID が cofactor hnRNP K 依存的に miRNA の RNA 編集により Top1 の翻訳制御を行うメカニズムと Top1 が抗体遺伝子特異的に DNA 切断を行う仕組みを明らかにする。さらに AID が cofactor hnRNP L 依存的に mRNA 編集を行い、産生されるタンパク質を同定し、その機能を解明する。AID は高親和性 IgA の腸内細菌制御を通して、代謝制御に関わると共に Top1 制御異常による遺伝子変異が様々な遺伝性神経疾患の原因になる。従って本研究は獲得免疫の根幹メカニズムの解明に止まらず、免疫異常による代謝制御や複製非依存性転写依存性ゲノム不安定化の背景を明らかにする。

【研究の方法】

AID による Top1 mRNA の翻訳制御機構について新たに発見した hnRNP K を用いた AID との複合体の免疫沈降により、結合 miRNA の前駆体を同定する。その上で RNA 編集の検定ならびに Top1 mRNA における Ago2 結合部位との相関を確認する。Top1 がゲノム上で特異的なターゲットを切断するメカニズムを明らかにするために全ゲノム中の Non-B DNA の形成を psoralen 結合法により H3K4me3 の修飾、Top1、FACT の集積をそれぞれ ChIP-Seq 法でゲノムワイドに検定し、その総合としての特異性決定の可能

性を検証する。さらに Top1 をターゲットにリクルートするタンパク群を免疫沈降法、また S 領域中に LexA 結合配列の挿入株を用いた免疫沈降法で同定し、siRNA、ChIP 法で機能の解明を行う。また切断後の DNA 修復と組換え制御に関しては新たに発見し、hnRNP L と AID との複合体に結合する mRNA を免疫沈降物の全シークエンス法により同定し生じるタンパク質の役割を Brd4 による二つの断端を接合させる機能と合わせて解明するために 3C 法や Chip 法を用いる。さらに DNA 断端に結合した Top1 プロセシングのメカニズムを siRNA、免疫沈降法により解明する。

【期待される成果と意義】

本研究では獲得免疫の根幹メカニズムを解明することでワクチン開発などの基本戦略に応用されるが、多くの hnRNP の機能は不明でその解明が重要であり、AID による発癌の仕組みの解明に貢献する。Top1 は転写依存性ゲノム不安定化機構の DNA 切断酵素であり、各種神経疾患やがんなどの病因解明につながる。ヒトの Top1、hnRNP K、hnRNP L の低機能性変異体は発がんや免疫不全症等の多因子遺伝病の病因解明につながる。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- Muramatsu, M. et al. *Cell* **102** 553-563 (2000)
- Kobayashi, M. et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **106**, 22375-22380 (2009)
- Kobayashi, M. et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **108**, 19305-19310 (2011)
- Stanlie, A. et al. *Mol. Cell* **55**, 97-110 (2014)
- Hu, W. et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **112** 5791-5796 (2015)

【研究期間と研究経費】

平成 27 年度 - 30 年度 153,500 千円

【ホームページ等】

<http://www2.mfour.med.kyoto-u.ac.jp/>

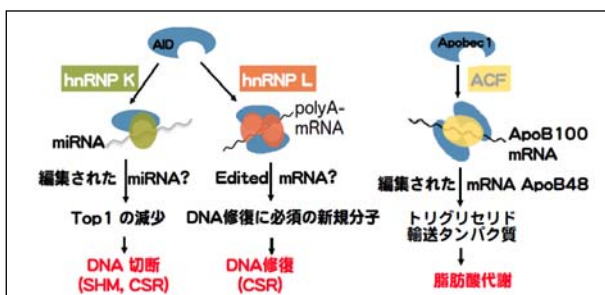


図 1. AID は hnRNP K と HnRNP L を共役因子とする