

## 【基盤研究(S)】

### 総合系(環境学)



## 研究課題名 **ヌクレオチド除去修復におけるゲノムDNA損傷認識の高次制御機構の解明**

神戸大学・バイオシグナル総合研究センター・教授

すがさわ かおる  
菅澤 薫

研究課題番号: 16H06307 研究者番号: 70202124

研究分野: 放射線・化学物質影響科学

キーワード: DNA損傷認識、ヌクレオチド除去修復、色素性乾皮症

### 【研究の背景・目的】

生物の遺伝情報を担うゲノムDNAは、様々な内的・外的要因によって絶えず損傷を受けている。ヌクレオチド除去修復(NER)は、紫外線や化学物質など、主に環境由来因子によって生じるDNA損傷を取り除くことで、がんなどの様々な疾患を抑制する生体防御機構として働いている。

哺乳類細胞のNERにおいては、皮膚がんの好発を特徴とする色素性乾皮症の責任遺伝子産物として知られるXPCあるいはDDB2を含むタンパク質複合体が損傷部位を認識し、DNAに結合することで修復反応が開始される。これらの「損傷認識因子」が試験管内で損傷DNAと特異的に結合できることは証明されているが、細胞内において長大なゲノムDNAに発生した数少ない損傷を効率良く認識することを可能にしている分子機構の詳細については、未だに不明な点が多く残されている。

本研究では、XPCやDDB2の細胞内動態及び相互作用因子に着目し、NER反応の開始段階の高次制御に関わる新たな因子の同定及び作用機序の解明を通じて、種々の環境ストレスに臨機応変に対応した効率的なゲノムDNAの監視と遺伝情報の維持を可能にする分子基盤を理解することを目的とする。

### 【研究の方法】

本研究では、NER反応の開始段階の制御に関わる新たな因子の同定とその作用機序の解明を目指し、3つのアプローチを統合的に駆使して研究を推進する。第一に、XPCやDDB2を含むタンパク質複合体を細胞から単離・精製し、その構成成分を質量分析により網羅的に同定する。第二に、局所紫外線照射と生細胞イメージングを組み合わせた独自のシステムを用い、蛍光タンパク質を融合したXPCやDDB2の損傷部位への集積過程に影響を与えるsiRNAや低分子化合物の探索を行う(図1)。第三に、ヌクレオ

紫外線照射前

照射60秒後

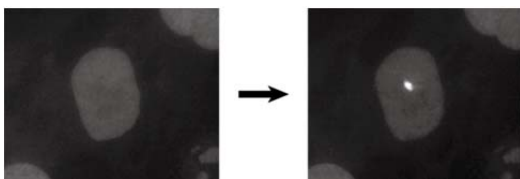


図1 局所紫外線照射部位へのEGFP融合XPCの集積

ソーム構造を取った損傷DNA基質と精製したNERタンパク質因子によってNER反応を試験管内で再構成し、この反応を促進する活性を生化学的に同定する。

以上のアプローチによって取得した候補因子について、細胞レベルで過剰発現や発現抑制を行い、紫外線感受性やDNA損傷修復速度の測定、損傷認識因子の動態等を解析することでNERの制御における機能を明らかにする。さらに無細胞NER反応系を用いてその機能を再現し、作用機序の分子レベルでの解明を目指す。

### 【期待される成果と意義】

DNA損傷の認識は修復反応全体の律速となる重要なステップであり、細胞内においてこの過程の促進に関わる新たな分子機構を明らかにすることで、生物が持つNER活性の人為的賦活化、さらには紫外線や化学変異原に対する防護、がんなどの様々な疾患の予防に関して新たな方法論の開発につながることを期待される。

### 【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- Akita M, Tak YS, Shimura T, Matsumoto S, Okuda-Shimizu Y, Shimizu Y, Nishi R, Saitoh H, Iwai S, Mori T, Ikura T, Sakai W, Hanaoka F, Sugawara K: SUMOylation of xeroderma pigmentosum group C protein regulates DNA damage recognition during nucleotide excision repair. *Sci. Rep.* 5, 10984 (2015).
- Matsumoto S, Fischer ES, Yasuda T, Dohmae N, Iwai S, Mori T, Nishi R, Yoshino K, Sakai W, Hanaoka F, Thomä, NH, Sugawara K: Functional regulation of the DNA damage-recognition factor DDB2 by ubiquitination and interaction with xeroderma pigmentosum group C protein. *Nucleic Acids Res.* 43, 1700-1713 (2015).

### 【研究期間と研究経費】

平成28年度-32年度 133,500千円

### 【ホームページ等】

<http://www.research.kobe-u.ac.jp/brce-sugasawa>