

翻訳後修飾による細胞機能制御機構の解明

岸 努, 日大工・生命

【緒論】

遺伝情報を正確に維持することはすべての生物に重要である。遺伝子の本体である DNA は様々な要因によって絶えず損傷を受けているため、細胞は損傷した DNA を修復するための DNA 修復経路を持っている。まず損傷部位を識別し、次にその周囲の DNA を切り出し、その後 DNA を再合成するという DNA 修復機構は 1980 年代に発見され、発見者は昨年ノーベル化学賞の榮譽に輝いたことは記憶に新しい。

しかし近年、S 期の細胞に損傷が入った場合、DNA 修復機構は機能しないことがわかってきた。DNA 複製中 DNA ポリメラーゼが損傷部位に直面すると、次にどの塩基を基質としてよいかわからなくなるため、複製フォークが停止する。すると一本鎖領域が露出する。一本鎖領域は構造上非常に不安定であるため、DNA 修復よりも損傷部位をなんとか乗り越えて複製する DNA 損傷トランス機構が機能すると解釈されている。

この DNA 損傷トランスには損傷部位の複製を正確性の低い DNA ポリメラーゼが行う TLS と、もう一方の新生鎖を鋳型に複製を行なう PRR という異なる二つの機構が存在する。これらは、複製型の DNA ポリメラーゼの伸長促進因子で DNA ポリメラーゼとともに DNA を移動する PCNA が、損傷部位でユビキチンというタンパク質による修飾を受けることで制御されることがわかってきた。すなわち、ユビキチンが一つ結合するモノユビキチン化が起きた場合には TLS が、複数ついたポリユビキチン化が起きた場合には PRR が活性化する(1-5)。PCNA のユビキチン化は、下流因子の集積の場を提示している

と予想されているが、その実体は全くわかっていない。

私たちは以下に示す実験結果から、PCNA のユビキチン化の機能の一つとして、DNA 損傷応答に関与している Ssu4(Substrate for SUMoylation) のスモ 1 化の場として機能するのではないかと考えており、その実証と生理的意味の解明を行っている。

【研究経過】

Ssu4 のスモ 1 化の細胞周期依存性

細胞内で合成されたタンパク質の活性や機能は、修飾を受けることにより調節される。このような翻訳後修飾として、低分子量タンパク質であるユビキチンが用いられるユビキチン化やスモ 1 が用いられるスモ 1 化が知られている。ユビキチン化の基質やスモ 1 化の基質をスクリーニングするために開発した conditional two-hybrid システム(6,7)を用いて、DNA 損傷応答に関与している Ssu4 がスモ 1 化修飾を受けることを昨年の当研究会で報告した。今回、Ssu4 のスモ 1 化についてさらに詳しく調べた。

Ssu4 は DNA 損傷剤である MMS で細胞を処理すると M 期および G1 期に強くスモ 1 化された。対照的に S 期では Ssu4 のスモ 1 化は減少した。このことから、Ssu4 のスモ 1 化は主に M 期から G1 期における損傷に対して応答することがわかった。

Ssu4 のスモ 1 化が、S 期で抑制されることを見出したが、序論で記した PCNA のユビキチン化は逆に S 期における DNA 損傷に依存して引き起こされる。そこで、Ssu4 のスモ 1 化が PCNA のユビ

キチン化によって阻害される可能性を調べた。PCNA の 164 番のリジン残基がユビキチン化の標的的部位であることがわかっているため、この部位をアルギニンに置換した PCNA-K164R 株を用いて、MMS 存在下で Ssu4 のスモ 1 化を調べた。その結果、Ssu4 のスモ 1 化は亢進した。したがって、S 期において Ssu4 のスモ 1 化が抑制されるのは、ユビキチン化された PCNA がスモ 1 化を阻害するためであることが示唆される。

(USA) 2007: 104, 17419-17423

7. T. Kishi et al. *Proc. Natl. Acad. Sci.* (USA) 2008: 105, 14497-17502

DNA 損傷の種類と Ssu4 のスモ 1 化

MMS は塩基のアルキル化と二重鎖切断を引き起こす。Ssu4 のスモ 1 化が、そのような DNA 損傷に依存するのか調べるために、MMS とは作用機序の異なる DNA 損傷を誘発する 4NQO と主に二重鎖切断を誘発するゼオシンを用いて Ssu4 のスモ 1 化を調べた。4NQO あるいはゼオシンは、いずれも Ssu4 のスモ 1 化を誘導した。しかしその程度は MMS の場合より著しく低かった。Ssu4 のスモ 1 化が塩基のアルキル化によって引き起こされることが示唆される。ただし、4NQO またはゼオシンで処理した場合と MMS 処理を行なった場合で DNA 損傷の程度が同程度であるか検討する余地がある。

【参考文献】

1. Hoegge et al. *Nature* 419: 135-141 (2002)
2. Stellter and Ulrich. *Nature* 425: 188-191 (2003)
3. Haracska et al. *Proc. Natl. Acad. Sci.* (USA) 103: 6477-6482 (2006)
4. Karras and Jentsch. *Cell* 141: 255-267 (2010)
5. Daigaku et al. *Nature* 465: 951-955 (2010)
6. T. Kishi et al. *Proc. Natl. Acad. Sci.*