

## 研究課題別 事後評価結果

1. 研究課題名： ゲノムの修復機構を基盤とした癌化・老化の制御

2. 研究代表者： 花岡 文雄(学習院大学 理学部 教授)

3. 研究内容および成果：

ヌクレオチド除去修復の分子レベルでの解明、さらに損傷乗り越え複製(TLS)という新しいタイプの修復機構の発見という成果を受け、老化やガンの制御の手だての獲得を目指し、巨大蛋白質複合体の単離・解析という分子レベルを中心に様々な階層を通じたゲノム修復機構の解明を、1)TLS、2)ゲノム全体修復(GGR)、3)転写と共役した修復(TCR)、4) crosstalkの4グループで進めた。

1)TLSにおける $\gamma$ ファミリーポリメラーゼの機能解析(TLSグループ)

a)TLSに欠損を持つ色素性乾皮症variant(XP-V)の原因遺伝子産物であるDNA polymerase  $\eta$  (Pol  $\eta$ )複合体を解析し、ユビキチンリガーゼ蛋白質、PCNAのほか、Pol  $\eta$ と同じ $\gamma$ ファミリーに属するREV1を検出した。b)XP-V細胞にREV1との相互作用部位を置換した変異体Pol  $\eta$ を発現させる研究から、内在的なTLS反応にはPol  $\eta$ とREV1との相互作用が必要であることが示唆された。c)Pol  $\eta$ の発現レベルを低下させた線虫は、紫外線照射により初期胚の孵化率は著しく低下し、DNA複製と細胞分裂が頻繁な時期では、Pol  $\eta$ はTLSを介して、紫外線損傷障害を抑制していると考えられる。d)Pol  $\eta$ とそのパラログであるPol  $\iota$ ノックアウトマウスの紫外線照射皮膚発ガン実験で、Pol  $\eta$ ノックアウトマウスは高い皮膚発ガンを示し、Pol  $\iota$ ノックアウトマウスは野生型と同様紫外線抵抗性を示すが、二重欠損マウスはPol  $\eta$ ノックアウトマウスには見られない悪性の高いガンが生じる。これは、Pol  $\iota$ も皮膚ガンの形成を防御していることを示し、Pol  $\iota$ の生理的な意義を認めた初めての例である。

2)GGRに関わるクロマチン構造変換機構とGGR因子の細胞内制御(GGRグループ)

色素性乾皮症原因遺伝子産物(XPC)と紫外線損傷DNA結合蛋白質(UV-DDB)という二つの損傷認識因子の損傷認識における機能連携の解明を進め、UV-DDBがXPCをユビキチン化し、損傷認識因子どうしが損傷部位で交代するというメカニズムを明らかにした。また再構成クロマチン実験により、ヌクレオソーム・コアに損傷が発生した場合、XPCの認識に先立ってクロマチン構造のリモデリングが必要になることを明らかにした。

3)TCRの分子機構とコケイン症候群(CS)やその類縁疾患の病態解析(TCRグループ)

TCRを選択的に欠損したCSの原因遺伝子産物CSAがDDB1と等と複合体を形成し、ユビキチンリガーゼ活性を示した。またXPGと基本転写因子TFIIHが複合体を形成しTFIIHの安定性に寄与するが、XPGの変異によってTFIIHが不安定となり、転写活性化に異常をもたらすことが分かった。CS-B患者では短縮CSB蛋白質が生成しており、何らかのgain-of-functionを有することを明らかにした。

#### 4)TFIIHの遺伝子発現に向けた核内Crosstalkにおける機能解析(Crosstalkグループ)

TFIIHおよびTFIIEについて研究を進め、RNAポリメラーゼIIは転写の際最大サブユニットのC末7アミノ酸繰返し領域の2番と5番セリンのリン酸化により活性化されること、TFIIHのp62のN末PHドメインがTFIIE  $\alpha$  酸性領域と結合すること、さらにこの結合がガン抑制蛋白質p53のp62との結合と競合する結果から、TFIIE  $\alpha$  とp62はp53による転写とDNA修復のスイッチに関わる可能性を示した。

#### 4. 事後評価結果

##### 4-1. 外部発表(論文、口頭発表等)、特許、研究を通じての新たな知見の取得等の研究成果の状況

期間中の外部発表、特許等の実績

発表論文: (邦文) 8件 / (英文) 82件

口頭発表: (国内) 94件 / (海外) 46件

特許出願: (国内) 1件 / (海外) 0件

TLS、GGR、TCR、Crosstalkの4つのグループで分担しゲノム修復機構の解明を進め、各種因子の修飾と損傷認識に関する多くの知見を得たこと、さらにTLSにおけるYファミリーポリメラーゼの発ガンと突然変異への関与の解明等数々の成果を上げた。当初に計画された制ガン剤や老化抑制物質の実用化に向けた成果にまでは至らなかったが、研究成果が一流誌を含む欧文誌に82編の原著論文として発表されたことは、DNA修復に関わる個別因子の機能解析として高く評価される。

##### 4-2. 成果の科学技術への貢献

修復蛋白質のユビキチン化の重要性の発見やGGR因子のクロマチン構造変化への関与等一連のDNA修復酵素群の作用機構について新しい機能やメカニズムが明らかにされたことは基礎研究として高く評価される。Pol  $\eta$ を中心とするYファミリーポリメラーゼの機能的相互作用の制御の発見は、今後モデル生物を利用した発ガンや老化研究の新たな展開につながることを期待される。

##### 4-3. その他特記事項(受賞等)

期間中の主な受賞は次の通りである。

花岡文雄: 第39回内藤記念科学振興賞

「高発がん性遺伝病細胞を用いた遺伝情報維持機構の解明」、2008年3月

花岡文雄: 平成21年度日本薬学会賞

「ゲノム情報維持の分子機構に関する研究」、2009年3月