

DNA 複製障害が娘細胞で修復される～分裂が終わるまで待つ！～

千葉大学大学院医学薬学府 4 年博士課程 1 年 久保田 翔

53BP1 nuclear bodies form around DNA lesions generated by mitotic transmission of chromosomes under replication stress

Claudia Lukas, Velibor Savic, Simon Bekker-Jensen, et al.

Nature Cell Biology 13, 243–253 (2011)

細胞は DNA 損傷に対して損傷応答メカニズムを持ちあわせており、UV などで損傷した DNA は修復されるようにできている。それ以外にも、DNA 複製の際にエラーが起きると、DNA 損傷が起きることが知られておりこれは複製ストレスと呼ばれている。通常、DNA 損傷が起きた際にはチェックポイント機構により、細胞周期が進行しないように細胞周期停止が起こる。そして DNA の損傷を回復してからもう一度、細胞周期を進行させて正常な分裂を行なうのである。

しかし、この論文では今までの考え方と異なり、複製ストレスの一部が損傷を受けたまま細胞周期が進行することを述べている。この現象がどのようなメカニズムで起こっているのかを筆者たちは解析を行なった。

まず、筆者らは 53BP1 という DNA 損傷応答に関わるタンパク質の foci が細胞に形成されることに着目した。アフィジコリンという複製ストレスを起こす薬剤を処理すると、53BP1 の foci の数が上昇することを示した。筆者らはこの 53BP1 を複製ストレスのマーカーとして GFP タグをつけて細胞周期に関わる foci の動きを追った。

53BP1 の foci を cyclin A と共染色すると、cyclin A の染色される細胞では 53BP1 の foci を検出することが出来なかった。cyclinA は S, G2 期で強く検出されるタンパク質であるため、53BP1 の foci は G1 期でのみ検出されることがわかった。これがどうして起こるのかを調べるために、細胞周期の進行を見ながら foci の形成を追った。

すると S 期に複製ストレスが生じて、チェックポイントに引っかからずに分裂期に進行することがわかった。複製ストレスはすでに解除されたのであろうか？ M 期が終わり G1 期に進行した細胞を観察すると、53BP1 の Foci が形成されることを見出した。また、アフィジコリンを前の S 期で処理した方が foci の数が多いことがわかった。さらに、53BP1 の foci の数や位置が娘細胞同士で高い確率でシンメトリックに存在することがわかった。このことから、S 期での複製ストレスの中で修復できないものはそのまま分裂期に入り、次の G1 期で 53BP1 の集積が行なわれることがわかった。

では、この正しく複製されなかった DNA はどのように M 期において染色体分配を起こすのだろうか。筆者たちは、正しく複製がされなかった部位がクロマチン凝縮の際に染色体が不安定化するために、DNA 損傷に転換されることを主張している。これは染色体の凝集の後に、 γ -H2AX の foci などを検出していることや、クロマチン凝縮に関わる分子であるコンデンシンをノックダウンすると 53BP1 の foci が減少することからも、複製ストレスがかかった部位は、クロマチン凝縮の際に DNA 損傷として転換されることがわかる。もう一つのメカニズムとして筆者らは以前、複製ストレスがか

かっている DNA が正常に分配するための機構として BLM というヘリカーゼを見出している。BLM をノックダウンすると、53BP1 の foci の数が上昇した。複製ストレスがかかっている部位は正常に複製が行なわれていないため、DNA が絡まっているような状態(Ultra fine bridge:UFB)になり、分裂期での正常な染色体分裂に影響を及ぼす。この UFB を解除するために、細胞は BLM というヘリカーゼによって UFB をほぐし、複製ストレスを解除していると考えられる。

最後に筆者たちは、複製ストレスがかかり正しく複製することが出来なかった部位に 53BP1 が結合する役割について調べた。染色体の中でも複製がうまく行われにくい染色体脆弱部位(chromosomal fragile site : CFS)と呼ばれる部位がある。CFS は複製ストレスがかかりやすく、がん細胞などで変異が起こりやすい部位として知られている。この CFS を、TdT labelling という切断された DNA を検出する方法を用いて DNA が不安定化されて切断されていないかどうかを調べた。すると、53BP1 をノックダウンしたときに、CFS の遺伝子がコントロールに比べて切断されていることがわかった。このことから、G1 期において 53BP1 は複製ストレスがかかった部位に集積することによって、その部位を保護していることがわかった。

今回の論文では、(1)S 期に生じた弱い複製ストレスはそのまま修復されず M 期に進むメカニズムがあること、(2)複製ストレスを受けた部位は、M 期においてクロマチン凝縮の際に DNA 損傷に転換されること、(3)DNA 損傷に転換されなかった部位は BLM というヘリカーゼによってほどかれて解消されること、(4)娘細胞において、DNA 損傷に転換された複製ストレス部位に、53BP1 が foci を形成して DNA を保護していること、(5)53BP1 で保護されていたものが S 期において修復されることがわかった。これは現在まで提唱されていた DNA 修復機構と異なり、細胞周期を越えて修復が起きるメカニズムを示唆するものとなった。また、CFS に異常が発生するメカニズムを示すことで、CFS に関わる細胞の癌化メカニズムの一端を明らかにしたと言える。

しかし、今回の論文では不確定の要素が多くある。コンデンシンをノックダウンすると、53BP1 の foci が増えるだけで関係性があるといえるのだろうか？BLM をノックダウンすると 53BP1 の foci が増えるのは M 期での分裂異常によるものではないといえるのだろうか？ ぜひ、さらに詳細なメカニズムが明らかになることを期待したい。

