



Tokyo Tech

2021 年 3 月 9 日

報道機関各位

東京工業大学

壊れた DNA を安全に修復するための第一歩を解明

ーペプチドを利用し DNA 修復系を意のままに操る可能性ー

【要点】

- 切断された DNA 鎖を正確に修復するためには相同組換えが必要
- 相同組換え誘導はヌクレアーゼ活性化による一本鎖 DNA の形成が必須
- 相同組換えを誘導するヌクレアーゼの活性化条件を分子レベルで解明
- たった 15 アミノ酸からなるペプチドがヌクレアーゼ活性化能を持つ

【概要】

東京工業大学 科学技術創成研究院 細胞制御工学研究センターの Aleksandar Zdravković (アレクサンダー・ゾドラヴコヴィチ) 研究員、坪内英生助教、岩崎博史教授のグループはテキサス大学ヘルスサイエンスセンターの Patrick Sung (パトリック・サン) 教授のグループと共同で、切断された DNA 鎖が正確に修復されるように誘導するための分子機構を明らかにした。

DNA 鎖が切断された場合、失われた**遺伝情報** (用語 1) を正確に復元するためには**相同組換え** (用語 2) が必須である。その際、切断された DNA 末端の二本鎖のうち的一方を削り込むことで、一本鎖 DNA を末端に露出させ、そこに相同組換えタンパク質を結合させる必要がある。この一本鎖 DNA の形成に重要な役割を果たすのが Mre11-Rad50-Nbs1 (MRN) よりなる **DNA ヌクレアーゼ** (用語 3) だが、この複合体が機能するには Ctp1 という制御タンパクにより活性化される必要がある。

研究グループは**試験管内の再構成** (用語 4) により Ctp1 のリン酸化が MRN と Ctp1 の会合を促すこと、活性化には Ctp1 の C 末端が必須であることを明らかにした。しかもこの活性化には Ctp1 末端を構成するたった 15 アミノ酸からなるペプチドで十分であった。この知見を応用することで、ペプチドを介して相同組換えの活性化や阻害を細胞レベルで制御できる可能性がある。

研究成果は 3 月 8 日付 (現地時間) の「*Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* (米国科学アカデミー紀要)」電子版に掲載された。

●背景

DNA 鎖が放射線などで損傷を受けた場合、破壊された遺伝情報を正確に復元するには、相同な配列を持つ DNA を見つけ出しその領域をコピーする、いわゆる相同組換えを用いた修復が唯一の手段である（図 1）。一方で、生物は切断された DNA の二重鎖を取り敢えず繋（つな）げて修復する、いわゆる末端結合修復機構も併せ持っている。末端結合は二重鎖切断（用語 5）による DNA 損傷を手っ取り早く塞（ふさ）ぐことができる一方で、修復に伴う遺伝情報の喪失が不可避である。

二重鎖切断末端に対してエキソヌクレアーゼ（用語 6）の働きで 3'末端を持つ一本鎖 DNA が形成されると、その部分に対して相同組換えタンパク質である RecA ファミリーに属するタンパク質（**RecA ホモログ**、用語 7）が螺旋状に結合する（図 2）。RecA ホモログは結合した一本鎖 DNA と相同な配列を持つ二本鎖 DNA を探し出し、相同な DNA 分子間で DNA 鎖交換反応を行う活性を持つ。その結果、二重鎖切断の正確な修復が可能となる。

このように、二重鎖切断末端が削り込まれることで相同組換え修復経路への誘導がおこることから、その反応を担うエキソヌクレアーゼの活性化は相同組換えを誘導する際に決定的なスイッチの役割を果たすと考えられる（図 2）。

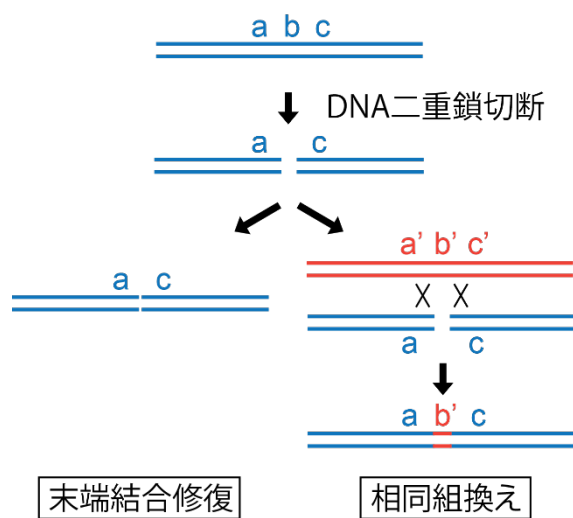


図 1 DNA 二重鎖切断修復。遺伝情報 a、b、c を持つ領域に二重鎖切断が入り遺伝情報 b が失われた場合、末端結合修復では b が失われるが、相同組換えでは相同配列を元に修復するため、a、b、c とよく似た a'、b'、c' を参照した結果 b' として復元される。

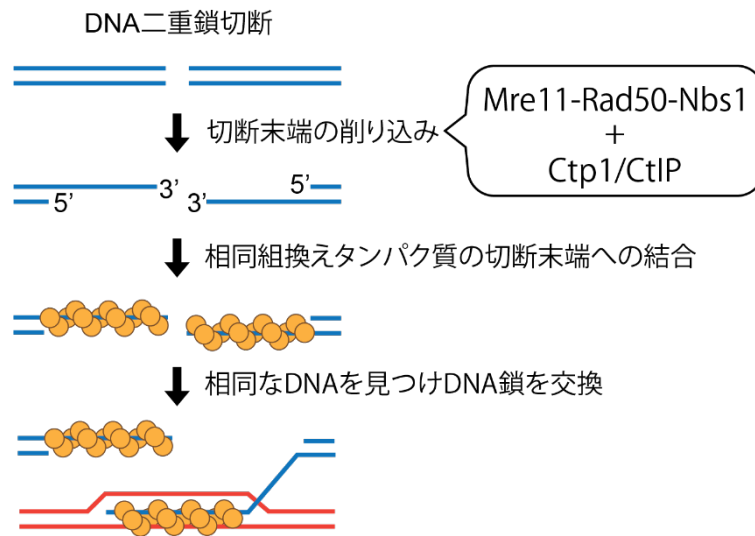


図 2 DNA 二重鎖切断末端の削り込みが相同組換えを誘導する。Mre11-Rad50-Nbs1 は Ctp1 により活性化され二重鎖切断末端を削り込むため、二重鎖切断が相同組換えで修復されるようになる。

●研究成果

分裂酵母をモデルに、相同組換えの開始制御の分子機構を生化学的に解析した。DNA 二重鎖切断末端の削り込みに関与する DNA ヌクレアーゼ複合体である Mre11-Rad50-Nbs1 (MRN)、及びその活性化因子である Ctp1 を大腸菌で発現・精製し、二重鎖切断末端に対して起こる一本鎖形成反応を試験管内で再構成した。その結果 Ctp1 が MRN を活性化する上で鍵となる 2 つの要因を分子レベルで特定した。

まず、Ctp1 は MRN と相互作用することでヌクレアーゼの活性化を行うが、その相互作用は Ctp1 リン酸化に依存し、Ctp1 のリン酸化は MRN の中でも Nbs1 との直接的相互作用を引き起こす事が分かった。また、Ctp1 のどの部位が MRN の活性化に必要なかを探索したところ、その C 末端が僅かにでも欠失すると MRN の活性化が起こらないことが判明した。MRN の活性化に必要な十分な領域を絞り込んだところ、驚いたことに Ctp1 末端を構成するたった 15 アミノ酸からなるペプチドを反応系に十分量加えるだけで MRN の活性化が起こることが分かった。さらに、ヒト由来の MRN にヒトの Ctp1 ホモログである CtIP の C 末端由来のペプチドを加えることでも MRN の活性化が起こることを見出し、このメカニズムが生物種間を超えて保存されていることを確認した。

●今後の展開

本研究により MRN が Ctp1 により活性化される鍵となる要因が分子レベルで特定された一方で、この Ctp1 由来の小さなペプチドがどのように MRN を活性化するのは今後の課題である。また、ペプチドレベルの小分子が相同組換えを活性化しうることは興味深い。

DNA 二重鎖切断は、正確だがコストのかかる相同組換え経路と不正確だが簡便な**末端結合経路**（用語 8）の両方で修復される。ヒトで**ゲノム編集**（用語 9）が困難なのは、ヒトでは末端結合経路が主要な二重鎖切断修復系だからである。細胞をペプチドで処理することで相同組換えを人為的に活性化させ、正確なゲノム編集を促進できるかも知れない。相同組換えの異常は様々な遺伝性疾患の原因となることからペプチドで相同組換えを制御することが新たな疾患治療法の開拓に繋がる可能性もある。

【用語説明】

- (1) **遺伝情報**：生命の遺伝情報は DNA の塩基配列として記述されている。よって DNA の塩基配列を一定に保つことが生命機能を正常に保つ上で重要である。
- (2) **相同組換え**：二つの DNA 分子が相同性を有する際、その部分で分子の乗り換え（すなわち組換え）が起こり新しい分子が生じる現象を相同組換えと呼ぶ。相同組換えは DNA に二重鎖切断を導入することで誘導される。
- (3) **DNA ヌクレアーゼ**：DNA は核酸の重合体であり、DNA を切断・分解する活性を持つタンパク質を DNA ヌクレアーゼと呼ぶ。
- (4) **試験管内の再構成**：生体内で起こっている現象を精製した材料のみを使って試験管内で再現することで、その現象の詳細を分子レベルで理解するアプローチ。
- (5) **二重鎖切断**：DNA は多くの場合、相補的な DNA 鎖がより合わさった二重らせん構造をとる。電離放射線などは DNA を構成する二本の DNA 鎖に対し同時に損傷を与える結果、二本鎖 DNA が完全に分断される。このような切断を二重鎖切断と呼ぶ。
- (6) **エキソヌクレアーゼ**：切断された DNA 末端特異的に DNA 鎖の分解を促進する DNA ヌクレアーゼをエキソヌクレアーゼと呼ぶ。
- (7) **RecA ホモログ**：大腸菌 RecA タンパク質は DNA が二重鎖切断を受けた際その末端に形成される一本鎖 DNA に螺旋状に結合し、その部分と相同性のある二本鎖 DNA 分子を見つけ出し、一本鎖 DNA を二本鎖 DNA に潜り込ませる活性（DNA 鎖交換活性）を有する。多くの真核生物は二種類の RecA ファミリータンパク質である Rad51 と Dmc1 を持ち、これらは RecA ホモログと称される。
- (8) **末端結合経路**：DNA 二重鎖切断修復における主要経路の一つであり、二重鎖切断を受けた DNA の末端同士を結合させる経路である。相同配列を参照して修復する相同組換えとは対比的に、末端結合による修復は遺伝情報の喪失を伴うことが多い。
- (9) **ゲノム編集**：生命の遺伝情報の総体であるゲノムに意のままに変更を加えることを可能にする技術。

【論文情報】

掲載誌：*Proceedings of the National Academy of Sciences of United States of America*（米国科学アカデミー紀要）

論文タイトル：A Conserved Ctp1/CtIP C-Terminal Peptide Stimulates Mre11 Endonuclease Activity

著者：Aleksandar Zdravković, James M. Daley, Arijit Dutta, Tatsuya Niwa, Yasuto Murayama, Shuji Kanamaru, Kentaro Ito, Takahisa Maki, Bilge Argunhan, Masayuki Takahashi¹, Hideo Tsubouchi*, Patrick Sung*, Hiroshi Iwasaki*（*co-corresponding authors）

DOI：10.1073/pnas.2016287118

【問い合わせ先】

東京工業大学 科学技術創成研究院 細胞制御工学研究センター 助教
坪内英生

Email: htsubouchi@bio.titech.ac.jp

TEL: 045-924-5149

東京工業大学 科学技術創成研究院 細胞制御工学研究センター 教授
岩崎博史

Email: hiwasaki@bio.titech.ac.jp

TEL: 045-924-5168

【取材申し込み先】

東京工業大学 総務部 広報課

Email: media@jim.titech.ac.jp

TEL: 03-5734-2975 FAX: 03-5734-3661