

平成 22 年 3 月 31 日現在

研究種目： 基盤研究 (B)
研究期間： 2007~2010
課題番号： 19310035
研究課題名 (和文) 新規細胞系を用いた放射線 DNA 損傷の修復精度と突然変異誘発機構の
解明
研究課題名 (英文) Study on DNA repair mechanism and mutagenesis using novel cell lines

研究代表者
田内 広 (TAUCHI HIROSHI)
茨城大学・理学部・教授
研究者番号： 70216597

研究代表者の専門分野：放射線生物学
科研費の分科・細目：環境学・放射線・化学物質影響科学
キーワード：修復、放射線影響、DNA 損傷

1. 研究計画の概要

本研究課題では、相同組換え (HR) と非同末端結合 (NHEJ) という 2 つの DSB 修復系路に関わるタンパク機能を、修復精度の制御という新たな視点から解明することを目指している。具体的には、Ku70 機能と NBS1 複合体との相互作用が DNA 損傷修復効率に与える影響、Ku70 と NBS1 の相互作用と突然変異との関係、HR による DSB 修復効率と細胞周期ならびに修復関連タンパク量との関係、の 3 点を明らかにする。

2. 研究の進捗状況

本研究計画では、変異型マウスエストロゲン受容体融合 I-SceI 酵素によりレポーター遺伝子の特定部位への DNA 二重鎖切断導入が 30 分以内で制御可能な、新規の部位特異的 DNA 切断による HR 修復実験系を樹立して細胞周期と HR との関連を明らかにすること、ニワトリ DT40 細胞を用いて DNA 修復タンパク質の相互作用を解析できる新たな遺伝子ダブルノックアウト細胞を樹立すること、さらに DNA 損傷の修復制度と突然変異誘発の関連解明のための新たな突然変異検出系の樹立を目指していた。細胞周期との関係を解析できる HR 修復系は条件設定に時間がかかったものの、現在は利用可能な細胞系が出来上がり、実際に細胞周期を同調させて修復効率の解析実験を進めている段階である。また、遺伝子ダブルノックアウト細胞では Nbs1/Ku70 ダブルノックアウト細胞の樹立に成功し、表現型の解析もかなり進行している。この細胞系についてはデータ取得と並行して論文の準備に取りかかっている。突然変異検出系については、選択マーカーとなる遺伝子がうまく

機能しないことがわかってきたため、DT40 細胞での樹立を断念し、ヒト細胞での新たな実験系を模索しているところである。なお、この研究の中で得られた成果の一部は、DNA Repair、J. Biol. Chem.、J. Radiat. Res. などの国際学術誌に発表している。これまでの研究で完成させた主要な 2 つの細胞系はまだ論文に着手しつつあるところで現段階では未発表であるが、先見のかつ独創的な実験系であると確信しており、今後の解析を進めることで大きな成果に展開できると考えている。

3. 現在までの達成度

②おおむね順調に進んでいる。
突然変異系を断念したものの、最も重要な 2 つの細胞系ができて機能しているので、当初の全体計画に対する達成度は 80% である。

4. 今後の研究の推進方策

今年度までに樹立できた Ku70 と Nbs1 のダブルノックアウト細胞をさらに詳細に解析し、DNA 損傷応答におけるこれらのタンパク質および HR と NHEJ の相互作用を明らかにし、その成果を学術論文として公表することを目指す。なお、本計画のこれまでの成果をもとに、細胞系および DNA 損傷の導入方法に改良を加えて実験内容をさらに高度化して再構築し、よりインパクトの高い国際競争に耐えうる成果に到達することも目指しており、この部分については最終年度の前年度申請により新たな研究課題を申請している。

5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者に

は下線)

[雑誌論文] (計 5 件)

1. Tauchi, H., Waku, H., Matumoto, E., Yara, S., Okumura, S., Iwata, Y., Komatsu, K., Frusawa, Y., Eguchi-Kasai, K., Tachibana, A.: Two major factors involved in the reverse dose-rate effect for somatic mutation induction are the cell cycle position and LET value. *J. Radiat. Res.* 50, 441-448, 2009. (査読有)
2. Nakano, T., Katafuchi, A., Matsubara, M., Terato, H., Tsuboi, T., Masuda, T., Tatsumoto, M., Pack, S.-P., Makino, K., Croteau, D. L., Van Houten, B., Iijima, K., Tauchi, H., Ide, H.: Homologous recombination but not nucleotide excision repair plays a pivotal role in tolerance to DNA-protein crosslinks in mammalian cells. *J. Biol. Chem.* 284, 27065-27076, 2009. (査読有)
3. Iijima, K., Muranaka, C., Kobayashi, J., Sakamoto, S., Komatsu, K., Matsuura, S., Kubota, N., Tauchi, H.: NBS1 regulates a novel apoptotic pathway through Bax activation. *DNA Repair* 7, 1705-1716, 2008. (査読有)
4. Iijima, K., Ohara, M., Seki, R., Tauchi, H.: Dancing on damaged chromatin: Functions of ATM and the RAD50/MRE11/NBS1 complex in cellular responses to DNA damage. *J. Radiat. Res.* 49, 451-464, 2008. (査読有)

[学会発表] (計 6 件)

1. Tauchi, H.: Post-translational modification of NBS1 regulates apoptosis induction in response to DNA damage. 第 68 回日本癌学会学術総会 (横浜, 2009 年 10 月 2 日)