

【基盤研究(S)】

生物系 (医歯薬学)



研究課題名 AID の RNA 編集機構による抗体の多様化とゲノム不安定化の制御機構

京都大学・大学院医学研究科・客員教授 ほんじよ たすく
本席 佑

研究課題番号: 15H05784 研究者番号: 80090504

研究分野: 医歯薬学

キーワード: DNA切断、組換え、獲得免疫、免疫記憶

【研究の背景・目的】

AIDは、ワクチンの有効性を保証する獲得免疫における抗体多様化とその記憶形成の中心酵素である。AIDは、Top1を介して抗体遺伝子の体細胞突然異とクラススイッチを行う一方、ミスターゲットによるゲノム不安定性を誘発する。本研究においてはAIDがcofactor hnRNP K 依存的にmiRNAのRNA編集によりTop1の翻訳制御を行うメカニズムとTop1が抗体遺伝子特異的にDNA切断を行う仕組みを明らかにする。さらにAIDがcofactor hnRNP L 依存的にmRNA編集を行い、産生されるタンパク質を同定し、その機能を解明する。AIDは高親和性IgAの腸内細菌制御を通して、代謝制御に関わると共にTop1制御異常による遺伝子変異が様々な遺伝性神経疾患の原因になる。従って本研究は獲得免疫の根幹メカニズムの解明に止まらず、免疫異常による代謝制御や複製非依存性転写依存性ゲノム不安定化の背景を明らかにする。

【研究の方法】

AIDによるTop1 mRNAの翻訳制御機構について新たに発見したhnRNP Kを用いたAIDとの複合体の免疫沈降により、結合miRNAの前駆体を同定する。その上でRNA編集の検定ならびにTop1 mRNAにおけるAgo2結合部位との相関を確認する。Top1がゲノム上で特異的なターゲットを切断するメカニズムを明らかにするために全ゲノム中のNon-B DNAの形成をpsoralen結合法によりH3K4me3の修飾、Top1、FACTの集積をそれぞれChIP-Seq法でゲノムワイドに検定し、その総合としての特異性決定の可能

性を検証する。さらにTop1をターゲットにリクルートするタンパク群を免疫沈降法、またS領域中にLexA結合配列の挿入株を用いた免疫沈降法で同定し、siRNA、ChIP法で機能の解明を行う。また切断後のDNA修復と組換え制御に関しては新たに発見し、hnRNP LとAIDとの複合体に結合するmRNAを免疫沈降物の全シークエンス法により同定し生じるタンパク質の役割をBrd4による二つの断端を接合させる機能と合わせて解明するために3C法やChip法を用いる。さらにDNA断端に結合したTop1プロセシングのメカニズムをsiRNA、免疫沈降法により解明する。

【期待される成果と意義】

本研究では獲得免疫の根幹メカニズムを解明することでワクチン開発などの基本戦略に応用されるが、多くのhnRNPの機能は不明でその解明が重要であり、AIDによる発癌の仕組みの解明に貢献する。Top1は転写依存性ゲノム不安定化機構のDNA切断酵素であり、各種神経疾患やがんなどの病因解明につながる。ヒトのTop1、hnRNP K、hnRNP Lの低機能性変異体は発がんや免疫不全症等の多因子遺伝病の病因解明につながる。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- Muramatsu, M. et al. *Cell* **102** 553-563 (2000)
- Kobayashi, M. et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **106**, 22375-22380 (2009)
- Kobayashi, M. et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **108**, 19305-19310 (2011)
- Stanlie, A. et al. *Mol. Cell* **55**, 97-110 (2014)
- Hu, W. et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **112** 5791-5796 (2015)

【研究期間と研究経費】

平成27年度-30年度 153,500千円

【ホームページ等】

<http://www2.mfour.med.kyoto-u.ac.jp/>

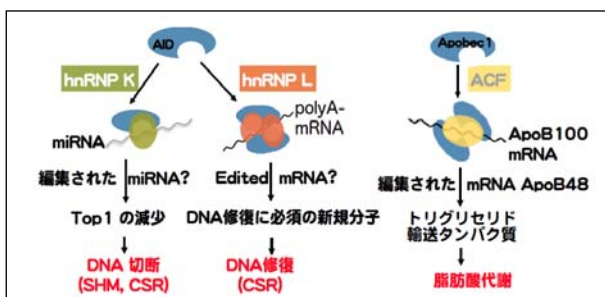


図1. AIDはhnRNP KとHnRNP Lを共役因子とする