

令和 6 年 6 月 7 日現在

機関番号：17401

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K12241

研究課題名（和文）新規の損傷トレランス機構による、ゲノム安定化

研究課題名（英文）Genomic DNA stabilization by novel mechanism of DNA damage tolerance

研究代表者

立石 智（Tateishi, Satoshi）

熊本大学・発生医学研究所・講師

研究者番号：00227109

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：RAD18欠損細胞では、DNA複製開始のステップの効率が低下していた。本研究により、RAD18による「複製開始の制御」は「損傷乗越え複製の制御」は、それぞれ独立した経路であることがわかった。またRAD18は特定のタンパクの活性に影響を及ぼすことで、複製開始の因子を安定化していることが判明した。複製開始に関与する因子が安定化することにより、複製ストレスを緩和して、停止した複製フォークの複製を補う。RAD18によるDNA複製の開始の制御が損なわれると、細胞老化が誘導されることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

複製ストレスを緩和するメカニズムが細胞には備わっており、発癌を抑制し老化の進行を抑制するために、それを理解することが重要である。RAD18欠損細胞では、DNA複製開始のステップが低下していることがわかった。複製開始のステップが抑制されると、細胞老化が誘導されることが示唆された。複製開始の頻度が低下したマウスでは、発癌頻度が増加することが報告されている。このため、RAD18による複製開始の安定化が、複製ストレスの解消および細胞老化の抑制にどのような影響を与えるのか明らかにすることは重要である。

研究成果の概要（英文）：E3 enzyme, RAD18 mono-ubiquitinates the PCNA protein, thereby inducing a special DNA polymerase eta to the site of DNA lesion that can overcome the lesion to continue replication (translesion synthesis). This allows DNA replication to resume and resolve the replication stress caused by DNA lesion. RAD18 may alleviate replication stress by a different mechanism than by translesion synthesis. We found that efficiency of initiation step of replication is reduced in RAD18-deficient cells. The present study reveals that “regulation of replication initiation” and “regulation of translesion synthesis” by RAD18 are independent pathways. We also found that RAD18 stabilizes replication initiation by interaction of RAD18 with specific protein. It is hypothesized that stabilized replication initiation compensates for the replication of arrested replication forks.

研究分野：ゲノムDNAの安定性の維持機構の解明

キーワード：RAD18 複製ストレス 損傷乗越え複製 DNA複製開始の制御

1. 研究開始当初の背景

「損傷トレランス」機構は、E3 酵素 RAD18 が中心的な役割を果たしており、損傷を含む DNA 鎖の複製を可能にする。このため、DNA が損傷しやすい環境でも複製を継続して細胞増殖を維持する役割をもつ。正常細胞の増殖を維持する一方で、癌化した細胞の増殖も助けてしまう面をもつ。「RAD18 がどのような機構に基づいて、正常細胞および癌細胞の増殖を維持するか明らかにすること」それを解明することを介してさらに一般的な課題として、「紫外線または放射線の照射で形成される DNA 損傷がどのような機構に基づいて、細胞老化を誘導し、癌細胞の増殖を抑制するか明らかにする」ことが本研究の「学術的問い」である。

2. 研究の目的

形成された複製開始点の半数以上は、実際に複製が開始せずに、複製停止などの非常事態に複製を開始してゲノム安定性に貢献する(PMID: 28641940)。これまで複製再開機構と RAD18 との関係、細胞老化との関連についての報告はなかった。本研究で、「複製開始量の減少が細胞老化を誘導する」という新規の概念を提示する。これは、癌の治療に応用する場合に有利な点となる。

3. 研究の方法

DNA 複製の開始を制御するタンパクが RAD18 タンパクと相互作用することがわかった。RAD18 がそのタンパクと相互作用することにより、DNA 複製にどのような影響を与えているか調べる。また Rad18 の欠損により細胞老化が促進される。このメカニズムに、RAD18 と相互作用するタンパクがどのような役割を果たしているのか明らかにする。

4. 研究成果

RAD18欠損細胞では、DNA複製開始のステップの効率が低下していた。本研究により、RAD18による「複製開始の制御」は「損傷乗越え複製の制御」は、それぞれ独立した経路であることがわ

かった。またRAD18は特定のタンパクの活性に影響を及ぼすことで、複製開始の因子を安定化していることが判明した。複製開始に関与する因子が安定化することにより、複製ストレスを緩和して、停止した複製フォークの複製を補う。複製ストレスの緩和が損なわれると、細胞老化が誘導されることが示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Lou Jitong, Yang Yang, Gu Qisheng, Price Brandon A, Qiu Yuheng, Fedoriw Yuri, Desai Siddhi, Mose Lisle E, Chen Brian, Tateishi Satoshi, Parker Joel S, Vaziri Cyrus, Wu Di	4. 巻 3
2. 論文標題 Rad18 mediates specific mutational signatures and shapes the genomic landscape of carcinogen-induced tumors in vivo	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 NAR Cancer	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/narcan/zcaa037	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Mustofa Md Kawsar, Tanoue Yuki, Chirifu Mami, Shimasaki Tatsuya, Tateishi Chie, Nakamura Teruya, Tateishi Satoshi	4. 巻 170
2. 論文標題 RAD18 mediates DNA double-strand break-induced ubiquitination of chromatin protein	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 The Journal of Biochemistry	6. 最初と最後の頁 33～40
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/jb/mvab010	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Senju C, Nakazawa Y, Oso T, Shimada M, Kato K, Matsuse M, Tsujimoto M, Masaki T, Miyazaki Y, Fukushima S, Tateishi S, Utani A, Murota H, Tanaka K, Mitsutake N, Moriwaki S, Nishigori C, Ogi T.	4. 巻 120
2. 論文標題 Deep intronic founder mutations identified in the ERCC4/XPF gene are potential therapeutic targets for a high-frequency form of xeroderma pigmentosum.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Proc. Natl. Acad. Sci. USA	6. 最初と最後の頁 e2217423120
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1073/pnas.2217423120.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Takaoka Yutaka, Ohta Mika, Tateishi Satoshi, Sugano Aki, Nakano Eiji, Miura Kenji, Suzuki Takashi, Nishigori Chikako	4. 巻 9
2. 論文標題 In Silico Drug Repurposing by Structural Alteration after Induced Fit: Discovery of a Candidate Agent for Recovery of Nucleotide Excision Repair in Xeroderma Pigmentosum Group D Mutant (R683W)	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biomedicines	6. 最初と最後の頁 249～249
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/biomedicines9030249	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 立石 智	4. 巻 56
2. 論文標題 ユビキチンライゲースRAD18による、損傷トレランスの制御	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 放射線生物研究	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 立石 智
2. 発表標題 E3enzyme, RAD18-directed ubiquitination of histone H2A and repair of double stranded DNA breaks (E3酵素RAD18による、ヒストンH2Aのユビキチン化とDNA鎖切断損傷の修復)
3. 学会等名 第44回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>熊本大学 発生医学研究所 損傷修復分野 http://www.imeg.kumamoto-u.ac.jp/bunya_top/department_of_cell_maintenance/ Cell Maintenance, IMEG, Kumamoto University http://www.imeg.kumamoto-u.ac.jp/en/bunya_top/department_of_cell_maintenance/ 熊本大学 発生医学研究所 損傷修復分野 http://www.imeg.kumamoto-u.ac.jp/bunya_top/department_of_cell_maintenance/ 熊本大学 発生医学研究所 損傷修復分野 英語版 http://www.imeg.kumamoto-u.ac.jp/en/bunya_top/department_of_cell_maintenance/</p>

6. 研究組織		
氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------