

## 研究成 果 報 告 書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) AB		蛍光イメージングを用いた新規ゲノムメンテナンス制御因子の探索			
研究テーマ (欧文) AZ		Search for novel factors involved in regulation of genome maintenance using live cell imaging techniques			
研究氏 代表者 名 者	カタナ CC	姓) スガサワ	名) カオル	研究期間 B	2013 ~ 2015年
	漢字 CB	菅澤	薰	報告年度 YR	2015年
	ローマ字 CZ	Sugasawa	Kaoru	研究機関名	神戸大学
研究代表者 CD	所属機関・職名	神戸大学自然科学系先端融合研究環バイオシグナル研究センター・教授			

概要 EA (600字~800字程度にまとめてください。)

研究代表者らが構築した細胞核局所への紫外線照射と蛍光顕微鏡によるリアルタイム観察を組み合わせたシステムを駆使し、哺乳類のヌクレオチド除去修復(NER)においてDNA損傷認識を担うXPC及びDDB2タンパク質のDNA損傷部位へのリクルートに影響を与える新規因子の探索を行った。蛍光タンパク質を融合したXPCまたはDDB2を安定発現するヒト培養細胞株をさまざまな因子に対するsiRNAや低分子化合物で処理し、局所紫外線照射を行ったところ、ヒストン脱アセチル化酵素(HDAC)阻害剤の存在下でXPCの損傷部位への集積に有意な遅延が認められた。この時、主要な紫外線誘発DNA損傷である(6-4)光産物の修復速度も有意に低下することが確認された。この過程に関わるHDACを特定するため、ヒトで発現する18種類の酵素それぞれに対するsiRNAを処理して同様の解析を行い、複数の候補因子を得た。

上記の結果は、一般にクロマチンの凝縮を促進し、遺伝子発現を負に制御すると考えられているヒストンのアセチル化がNERの開始に対して促進的に働く可能性を示唆する。そこでクロマチンの凝縮に関わるさまざまな因子に着目して解析を進めた結果、ヘテロクロマチンの主要な構成成分であるHP1自身が局所紫外線照射部位にリクルートされることを見出した。このHP1の集積は3種類のサブタイプ(α, β, γ)すべてについて認められ、またXPCやDDB2の発現に依存しないことがわかった。さらにヘテロクロマチン形成に関わるDNAメチル化酵素のうち、新規メチル化酵素DNMT3a及びDNMT3a2が局所紫外線照射部位に集積することを見出した。一方、維持メチル化に関わるDNMT1については損傷部位へのリクルートはほとんど観察されなかった。以上の結果はNERの初期過程におけるヘテロクロマチン様構造の関与を示唆しており、現在その詳細な分子機構の解析を進めている。

キーワード FA	ヌクレオチド除去修復	XPC	クロマチン	蛍光イメージング
----------	------------	-----	-------	----------

(以下は記入しないでください。)

助成財団コード TA					研究課題番号 AA							
研究機関番号 AC					シート番号							

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）								
雑誌	論文標題 GB							
	著者名 GA		雑誌名 GC					
	ページ GF	~	発行年 GE				卷号 GD	
雑誌	論文標題 GB							
	著者名 GA		雑誌名 GC					
	ページ GF	~	発行年 GE				卷号 GD	
雑誌	論文標題 GB							
	著者名 GA		雑誌名 GC					
	ページ GF	~	発行年 GE				卷号 GD	
図書	著者名 HA							
	書名 HC							
	出版者 HB		発行年 HD				総ページ HE	
図書	著者名 HA							
	書名 HC							
	出版者 HB		発行年 HD				総ページ HE	

#### 欧文概要 EZ

The combined equipment with local UV irradiation and a fluorescent microscope was used to search for novel factors, which affect recruitment of XPC and/or DDB2, DNA damage recognition proteins involved in mammalian nucleotide excision repair (NER), to sites with UV-induced DNA damage. The human fibroblast cell line, which stably expressed XPC or DDB2 fused to a fluorescent protein, was treated with siRNAs or chemical compounds targeting various factors and subjected to local UV irradiation to observe accumulation of fluorescent signals to the damaged areas. We found that siRNAs and inhibitors targeting histone deacetylases significantly retarded recruitment of XPC to local DNA damage as well as removal of major UV-induced DNA photolesions from the genome. In addition, several factors involved in condensation of chromatin structures, such as heterochromatin protein 1 and DNA methyl transferases, were shown recruited to the sites with UV-induced DNA damage. These results suggest that, unlike regulation of gene expression, formation of heterochromatin-like structures may be somehow beneficial for initiation of NER. Detailed molecular mechanisms underlying this process are under investigation.