

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		オーキシンドグロン技術を利用したゲノム安定維持メカニズムの解明			
研究テーマ (欧文) AZ		Revealing the mechanism for genome maintenance by use of the auxin-inducible degron technology			
研究氏 代 表 名 者	カタカナ CC	姓) カネマキ	名) マサト	研究期間 B	2016~2017年
	漢字 CB	鐘巻	将人	報告年度 YR	2017年
	ローマ字 CZ	Kanemaki	Masato	研究機関名	国立遺伝学研究所
研究代表者 CD 所属機関・職名		国立遺伝学研究所・教授			
概要 EA (600字~800字程度にまとめてください。)					
<p>ヒト細胞において2mにも及ぶゲノムDNAを、細胞増殖に際して毎回複製することは、時として危険を伴う。特に複製フォークとDNAダメージや転写装置との衝突は、複製フォークの停止を引き起こし、その結果として未複製の領域を残してしまう可能性が生じる。細胞はゲノム安定性を維持するため、複製フォーク停止に対処するメカニズムを持つと考えられるが、そのメカニズムはほとんど明らかになっていない。</p> <p>そこで、複製フォークが不可逆的に停止した際に細胞がどのようにDNA合成を続けて、DNA複製を完遂するのかを理解するために、複製フォークを進行させるMCMヘリカーゼサブユニットMCM2にオーキシンドグロンタグを導入したヒト細胞株を樹立した。この細胞では、オーキシン添加によるレプリソームの破壊により、すべての複製フォークを停止させることができる。この細胞株において、S期に複製フォークを停止させると、MCMヘリカーゼが機能しないにもかかわらず、多少のDNA合成が観察された。その際にはDNA切断が起きており、引き続いて起きるDNA合成の一部はMCMパラログであるMCM8-9に依存していた。さらにMCM8-9は相同組換え中に、RAD51依存的な組換え中間体のDNA合成を促進していた。遺伝学的な解析から、MCM8-9依存的DNA合成は、過去に報告されていたM期のDNA合成とは異なった経路でDNA合成を促進していることを見出した。</p> <p>以上の結果から、ヒト細胞はDNA複製フォークが不可逆的に停止してしまい、DNA複製が完遂できない際にも、複数のシステムを利用して染色体DNA複製を全部終えようとするのが明らかになった。MCM8-9依存的DNA合成は、RAD51依存的相同組換えを利用して、S期にDNA合成を続けようとする。一方、M期に起きるDNA合成は、RAD52依存的であることが知られており、この経路にはMCM8-9は必要ない。これらシステムは、ヒト細胞のゲノム安定性維持に寄与していると考えられる。一連の研究成果はGenes & Development誌に公表された(Natsume et al. Genes & Development, 2017)。また、オーキシンドグロンに関する総説論文を公表した(Natsume and Kanemaki, Annual Review of Genetics, 2017)。</p>					
キーワード FA	ゲノム維持	DNA複製	DNA修復	細胞工学	

(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}	Acute Inactivation of the Replication Helicase in Human Cells Triggers MCM8-9 Dependent DNA Synthesis							
	著者名 ^{GA}	Natsume et al.	雑誌名 ^{GC}	Genes & Development					
	ページ ^{GF}	816~829	発行年 ^{GE}	2	0	1	7	巻号 ^{GD}	31
雑誌	論文標題 ^{GB}	Conditional Degrons for Controlling Protein Expression at the Protein Level							
	著者名 ^{GA}	Natsume and Kanemaki	雑誌名 ^{GC}	Annual Review of Genetics					
	ページ ^{GF}	83~102	発行年 ^{GE}	2	0	1	7	巻号 ^{GD}	51
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	~	発行年 ^{GE}					巻号 ^{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

It is challenging for human cells to complete DNA replication of all chromosomes, the length of which is about 2 m, during S phase. Collision between the replication and transcription machineries can cause replication fork stalling, which might lead to make un-replicated regions in chromosomes. Human cells likely have mechanisms to deal with the problem. However, little is known about them.

To understand the mechanisms to deal with permanent stalling of replication forks, we generated human cell line, in which MCM2, a component of the MCM replicative helicase, was fused with the auxin degron. In these cells, all replication forks can be stalled by the inactivation of the replisome in S phase. When we induced fork stalling in S phase, DNA synthesis was observed even in the absence of the functional MCM helicase. DNA double-strand breaks were seen in these cells, followed by DNA synthesis promoted by MCM8-9, a paralog complex of the MCM helicase. MCM8-9 promoted DNA synthesis occurring downstream of RAD51-dependent recombination. Genetic analyses revealed that MCM8-9 dependent DNA synthesis is distinct from another type of DNA synthesis occurring in mitosis.

From the above study, we concluded that human cells have multiple mechanisms for promoting DNA synthesis when replication forks stalled permanently. The MCM8-9-dependent synthesis occurs in S phase in downstream of RAD51-dependent recombination. The DNA synthesis occurring in mitosis is reported to be dependent on RAD52, and does not require MCM8-9. These DNA synthesis mechanisms promote the completion of DNA replication before chromosome segregation, and are supposed to contribute for maintenance of genome integrity. We published these findings in Genes & Development (Natsume et al. Genes & Development, 2017). We also published a review paper on auxin-inducible degron technology (Natsume and Kanemaki, Annual Review of Genetics, 2017).