助成番号　210613	５－２

研 究 成 果 報 告 書

研究テーマ（和文）	クライオ電子顕微鏡によるヌクレオチド除去修復に伴う動的クロマチン構造変化の解明			
研究テーマ（英文）	Cryo-EM studies on the dynamics of cellular chromatin during nucleotide excision repair			
研究期間	2021年 ～ 2022年		研究機関名　東京大学定量生命科学研究所	
研究代表者	氏名	（漢字）	松本　翔太	
		（カタカナ）	マツモト　ショウタ	
		（英文）	Matsumoto Syota	
	所属機関・職名			
共同研究者 ＊２名をこえる場合は、【別紙追加用紙】(P3)に３人目以降を追記してください。	氏名	（漢字）		
		（カタカナ）		
		（英文）		
	所属機関・職名			
	氏名	（漢字）		
		（カタカナ）		
		（英文）		
	所属機関・職名			

概要 （600 字～800 字程度にまとめてください。）

生物のゲノムは紫外線や放射線、活性酸素種など様々な環境要因により、絶えず損傷を受けている。ヌクレオチド除去修復(NER)は紫外線などにより生じた損傷を取り除く重要な DNA 修復機構の一つである。NER を先天的に欠損することにより、色素性乾皮症やコケイン症候群といった遺伝病を発症することが古くから知られていた。そのため NER の分子メカニズムについては長らく研究が進められており、個々の原因遺伝子産物や NER 因子の活性については理解が進んできている。一方、生化学的に明らかになったタンパク質の機能の中でも、細胞内における機能については不明な点が多く残されている。その理由として、試験管内再構成で用いられる DNA と細胞内 DNA が大きく異なることが挙げられる。細胞内において DNA はヒストンタンパク質に巻き付いたクロマチン構造をとっており、DNA へのアクセスが制限されている。これは NER 因子が損傷へアクセスすることを妨げていると想定され、クロマチン上の損傷に対する NER を理解することが重要である。

そこで細胞内 NER を直接理解するため、細胞に紫外線をした後に損傷結合因子をプルダウンし、損傷クロマチンごと NER 因子を単離した。ここで得られた損傷結合因子 UV-DDB 複合体と損傷クロマチンの複合体に対して、クライオ電子顕微鏡(Cryo-EM)を用いて構造解析を行った。その結果、細胞内の損傷クロマチンに直接結合した UV-DDB 複合体の三次元立体構造を初めて明らかにすることに成功した。これはクロマチン損傷に対して、NER 因子が直接 DNA 修復反応を行うことが出来ることを示しており、NER 機構はクロマチン構造による構造的障壁を突破する能力を保持することがわかった。これらの結果は細胞内の NER を初めて分子レベルで捉えたものであり、現在論文発表に向けて執筆中である。

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	論文課題					
	著者名		雑誌名			
	ページ	～	発行年		巻号	
雑誌	論文課題					
	著者名		雑誌名			
	ページ	～	発行年		巻号	
雑誌	論文課題					
	著者名		雑誌名			
	ページ	～	発行年		巻号	
図書	書名					
	著者名					
	出版社		発行年		総ﾍﾟｰｼﾞ	
図書	書名					
	著者名					
	出版社		発行年		総ﾍﾟｰｼﾞ	

英文抄録（100 語～200 語程度にまとめてください。）

Our genome is exposed by various environmental factors such as ionizing radiation or ultraviolet (UV). We have evolved defense mechanism called DNA repair to protect our genome from these damage sources. Nucleotide excision repair (NER) is one of important mechanisms which eliminate DNA lesions mostly generated by UV. Xeroderma Pigmentosum (XP) and Cockayne syndrome (CS) are the representative diseases derived from the defect of NER. The detailed mechanism of NER have studied but cellular NER mechanism remains to be understood because genomic DNA is wrapped around histone proteins and forms DNA–protein complex called chromatin. Our aim is to determine the structure of NER factors assembled in damaged chromatin.

We first established the cell lines which expresses protein–tagged NER factors. After UV irradiation, we isolated NER factors with damaged chromatin by pull–down method. We applied this complex, consisted of UV–DDB and damaged chromatin, for cryo–EM analyses. We successfully determined the structure of this complex, and this cryo–EM structure shows that UV–DDB is directly binding DNA lesions in chromatin in cells, and proceed NER mechanism. This is the first model of cellular NER in chromatin and we plan to publish a paper of these results.