

**【目的】** 真核生物の DNA は、ヒストンタンパク質とクロマチン構造を形成している。我々は、DNA 損傷応答に関与する TIP60 ヒストンアセチル化酵素が、ヒストン H2A のバリエーション H2AX をアセチル化し、クロマチンからの放出を促すことにより損傷領域のクロマチンを open に維持することを見出した。これまでヒストンは、DNA 修復因子などの DNA へのアクセスを阻害する、バリアータンパク質として認識されていたが、我々は、H2AX のクロマチンからの放出という一見、シグナル因子のような振る舞いが、active player として積極的に DNA 損傷応答反応に関与していることをこれまで明らかにしてきた。我々は、NIH3T3 細胞を用いたコロニーフォーメーションアッセイでコロニー形成能が、TIP60 をノックダウンすると高まることを明らかにしており、これらの結果は、クロマチンの動的変化を促す TIP60 による H2AX のアセチル化が、DNA 損傷応答シグナルを制御していると同時に、がん抑制シグナルとしても働いている可能性を示唆している。本研究の目的は、損傷領域のクロマチンの動的変化を制御する TIP60 による H2AX のアセチル化シグナルが、癌抑制シグナルとなる可能性を検討する。

**【方法】** TIP60 による H2AX のアセチル化とリン酸化酵素 ATM との関係とがん抑制シグナルとしての H2AX のアセチル化の役割について以下の方法で検討する。

1. TIP60 による H2AX のアセチル化の損傷部位への ATM の集積に対する影響をクロマチン免疫沈降法を用いて検討
2. NIH3T3 細胞における H2AX のアセチル化、リン酸化、および p53 のコロニー形成能比較実験
3. H2AX のアセチル化とリン酸化を細胞内で阻害した時の *HPRT* (ヒポキサンチン・グアニンホスホリボシルトランスフェラーゼ) 遺伝子の変異原性解析
4. フローサイトメトリーを用いた H2AX アセチル化の DNA 損傷後のチェックポイント活性化への影響

**【結果】** TIP60 による H2AX のアセチル化を細胞内で阻害すると、H2AX のリン酸化を阻害した時よりもコロニー形成能が増大すること、また G1/S のチェックポイント活性化が阻害されることが明らかになった。さらに TIP60 の基質として知られているがん抑制因子 p53 にも着目し、H2AX と p53 が同一の経路でコロニー形成に作用しているのかについて検討し H2AX と p53 は、同一の経路で作用していることが示唆された。*HPRT* 遺伝子の変異原性解析の結果においても TIP60 による H2AX のアセチル化を細胞内で阻害すると *HPRT* 遺伝子の変異率が增大することが示されたが、低線量率放射線を与えた場合では、H2AX のリン酸化を阻害した時の方が、*HPRT* 遺伝子の変異率がやや増大する傾向となった。H2AX のアセチル化と ATM のリン酸化との関係については、H2AX のアセチル化を阻害するとリン酸化 ATM の DNA 損傷領域への集積が過剰になり、H2AX のアセチル化と ATM のリン酸化カスケードは、互いに補完的であることが示された。以上より、H2AX のアセチル化が、がん抑制シグナルとして働く可能性があることが示唆された。

H2AX のアセチル化とリン酸化を細胞内で阻害した時の *HPRT* 遺伝子の変異原性解析の結果

