

54	DNA複製開始を制御する機構の異常によるゲノム不安定化	田中 誠司
----	------------------------------------	-------

【目的】細胞が増殖するとき、各細胞分裂周期においてそのゲノム DNA は正確に複製・分配され、世代を超えて安定に維持されなくてはならない。しかし逆に、重複・転座といった染色体 DNA の大幅な変化は、進化の原動力となることも示唆されている。したがって、生物は世代を超えて染色体を安定に維持していくことを保証する機構を備えると同時に、超長期的には、染色体改編のポテンシャルも併せ持つと考えられる。我々はこれまでに、ゲノムの安定維持のために細胞が備える、一回の細胞周期につき染色体 DNA 複製起を一度だけに限定する巧妙な制御機構（Once per Cell Cycle 制御：OCC 制御）の解明を行い、その制御の破綻がゲノムの不安定化を誘導することを示してきた。通常は複製開始が起こらない G1 期において人工的な OCC 制御からのエスケープを誘導すると、強い細胞毒性を示し、多くの細胞は死に至るが、低い割合でサバイバーが現れる。このサバイバーは高頻度に染色体の異数性や染色体転座等の Gross Chromosome Rearrangements (GCR) を伴うゲノム不安定化を示す。一方、がん細胞においてはゲノムの不安定化はその大きな特徴である他、しばしば複製開始因子の発現亢進が観察されることも知られている。これらの事実、複製因子の高発現が OCC 制御からのエスケープを誘導しゲノムを不安定化させ、細胞がん化に関与する可能性を示唆している。そこで、OCC 制御の破綻に細胞がどう反応し、ゲノム不安定化が如何に生起するのかを、まずモデル細胞である酵母を用いて理解することを目指した。

【方法】OCC 制御の破綻による過剰複製は DNA2 本鎖切断等の DNA 損傷につながり、DNA ダメージ応答経路が活性化される。そこで、DDR の中核をなす種々の因子をそれぞれ欠損させた細胞株において、OCC 制御破綻を誘導し、その後の細胞生存率の測定・サバイバークローンのゲノム編成に与える影響を定量的に測定した。

【結果】DNA2 本鎖切断が生じた際には、細胞はそれを検知して DNA ダメージ応答 (DNA damage response : DDR) 経路を活性化し、修復反応を行う。この経路に関わる種々の因子 (検知・シグナル伝達・修復) の変異を用いて OCC 制御の破綻による過剰複製を誘導することで、各修復因子・経路が OCC 制御の破綻で生じる DDR において果たす役割の解析を行った。その結果、驚くべきことに、DDR 経路のいずれの因子の欠損も過剰複製誘導後の細胞生存率に大きな影響を与えなかった。また、欠損させた因子によってはその欠損がある方がむしろ生存率が高くなるというさらなる驚きの結果を得た。これらの結果はこれまでに知られている DDR 経路が、過剰複製に対しては無効であることを示している他、こと細胞生存率に限って言えば、その経路を使ったダメージの修復を試みない方がむしろよいということを示す。これらの結果はさらに、DNA 過剰複製という制御異常が、細胞周期においてなぜ確実に抑止されなくてはならないのかを逆説的に示すものであり、DDR 経路が果たす役割についても新たな概念の提出につながるものである。

DDR 経路は過剰複製で生じるダメージに対し有効に機能できない

