

連携大学院 正井研究室 東京都医学総合研究所

(東京大学 大学院 新領域創成科学研究科 メディカル情報生命専攻・臨床医科学分野 連携講座；
東京理科大学 大学院 理工学研究科 応用生物科学専攻科 連携講座；首都大学東京 大学院 理工学研究科)

1. 構成

正井 久雄, 松本 清治, Zhiying You, 吉沢 直子, 森山 賢治, 田中 卓, 新本 美智枝, 加納 豊, 山崎 聡志(以上研究員); 伊藤 さゆり(以上ポストドク); Yang Chi-Chun(以上東大新領域創成科学研究科大学院生); 関 由美香(お茶の水大学大学院生); 覚正 直子, 深津 理乃(研究技術員); 皆川 明子(事務補助員); 中島 綾奈(技術補助員); 山田 正之, 宇野 修司, 前澤 創(以上協力研究員)

2. 研究紹介

染色体 DNA 複製は、正確に、高速に、秩序正しく起こらなければならない。この過程に異常が生じると、がん細胞や老化細胞に見られるゲノムの遺伝的不安定性(変異、染色体の欠損や再編成など)を引き起こすことは容易に想像できる。実際、最近の研究から、内的外的な原因による複製障害に対する適切な細胞応答の破綻が、初期がん細胞の遺伝的変化の主要な要因になっていることが示されている。また染色体 DNA 複製は、細胞周期進行上のみでなく、発生・分化の過程で起こる、クロマチン再編成や転写活性変動とも密接に関連していると考えられる。私達は、これらの問題を解決するために、主に以下の5個の研究課題を推進している。

1) 染色体上における複製起点活性化のプログラム制御の分子基盤の解明 ゲノム上の DNA 複製開始領域とその開始のタイミングは、それぞれの細胞での遺伝的プログラムに規定されると同時に発生・分化の過程、あるいは細胞型により変動するという可塑性も有する。分裂酵母及び動物細胞を用いて、複製プログラムを規定する制御因子を同定し、それらによる制御メカニズムの解明を試みる。最近、核内染色体の局在や高次構築(クロマチンルーピング)を制御する因子 Rif1 を発見し、これが複製タイミングを含む種々の染色体ダイナミクスを制御するメカニズムを解明した。

2) 複製フォークの形成とその分子構築の解明、複製システムの起源と進化 複製フォークは、DNA 複製の場であるとともに多くの染色体動態の要となる。精製タンパク質を用いた複製フォークの再構成、素過程の酵素的解析を通してフォークの形成機構と分子構築を明らかにし、細胞増殖の中心である DNA 複製の制御機構を解明する。さらに、大腸菌からヒトに至る複製様式を比較検討し、ゲノム複製開始の共通の基本メカニズムを発見、解明し、その起源と進化について明らかにする。

3) ゲノム安定性の維持とその破綻による病態解析、幹細胞制御や生物周期と複製制御の関連 複製ストレスは、がん化や老化の最も直接的な原因となる。従って、複製ストレスに対する細胞応答機構の解明は、がん化、老化の根本的メカニズム解明に必須である。複製ストレスに対する細胞応答の破綻が、細胞、個体レベルでどのような表現型或いは病態を呈するかを解明するため、種々の複製フォーク因子の変異体を分裂酵母とマウスで作製し、その表現型を解析する。又、複製、チェックポイント因子の遺伝的、発生工学的解析を介して、発生・分化における機能、胚性幹細胞の未分化性の維持における機能等、生物学的に重要な問題に取り組む。

4) ゲノム DNA 上の非 B 型構造の役割の解明 上記の研究からグアニン 4 重鎖などの非 B 型構造が染色体高次構造の維持や複製開始に重要な役割を果たすことが明らかになってきた。これらの DNA 構造の生物学的意義を解明するとともに、その変異が疾患・老化に関与する可能性を探索する。

5) 複製、細胞周期因子を標的とした新規創薬 がん細胞では多くの場合変異蓄積のためにチェックポイントシステムの部分的破綻がもたらされている。よって、複製因子、チェックポイント因子を標的とし、がん細胞特異的にacuteなDNA障害を誘導し、細胞死をもたらしことが可能であると想像される。実際に、Cdc7キナーゼなどを標的として新規の制がん剤の開発を行なっている。

3. 最近の研究発表 (主なもののみ)

Koiwai, K. *et al. Genes to Cells* 20, 242 (2015); Jeffery D.C. *et al. Cell Cycle* 14, 74 (2015); Yamada, M. *et al. Cell Cycle* 13, 1859 (2015); Bellelli, R. *et al. Mol. Cell* 55, 123; Renard-Guillet C. *et al. Semin Cell Dev Biol.* 30, 110 (2014); Masai, H. *Cell Cycle* 13, 882 (2014); Yoshizawa-Sugata N, Masai H. *Methods Mol Biol.* 1170, 279 (2014); Masai, H. *J. Mol. Biol.* 425, 4663 (2013); Matsumoto, S. and Masai, H. *Biochem. Soc. Trans.* 41, 1712 (2013); Yamada *et al. Genes and Development*, 27, 2459 (2013); Jeffery *et al. Nucl. Acids. Res.* 41, 8475 (2013); You *et al. PLoS ONE* 8, e72408 (2013); Yamazaki, S. *et al. Trend in Genetics* 29, 449 (2013); Yamazaki, S. *et al. EMBO J.* 31, 3167 (2012); Hayano, M. *et al. Genes and Development*, 26, 137 (2012); Moriyama, K. *et al. J. Biol. Chem.* 287, 23977 (2012); Ito, S. *et al. PLoS One*, 7, e36372 (2012); Oda, M. *et al. PLoS One* 7, e42375. (2012); Miyoshi, T. *et al. Mol. Cell* 47, 722 (2012); Barkley, L.R. *et al. Mol. Biol. Cell.* 23, 1943 (2012); Suzuki, T. *et al. J. Biol. Chem.* 287, 40256 (2012); Hayano *et al. Mol. Cell. Biol.* 31, 2380 (2011); Matsumoto *et al. J. Cell Biol.* 195, 387 (2011); Kitamura *et al. J. Biol. Chem.* 286, 23031 (2011); Tanaka, T. *et al. J. Biol. Chem.* 285, 39609 (2010); Furuya, K. *et al. Mol. Cell* 40, 606 (2010); Day, T.A. *et al. J. Cell Biol.* 191, 953 (2010); Matsumoto *et al. Cell Cycle* 9, 4627 (2010); Masai, H. *et al. Annual Rev. Biochem.* 79, 89 (2010); Masai, H. *et al. BioEssays* 32, 687 (2010)