

図2 エンドサイトーシスを介したアクチン構造制御による生殖質因子の係留のモデル

卵母細胞後極において、エンドサイトーシスは Oskar タンパク質（長鎖アイソフォーム）により活性化される。活性化されたエンドサイトーシスは、アクチン纖維束の形成を促し、生殖質因子の後極への係留を制御する。エンドソーム経路の下流ではアクチン制御因子が機能していることが予想されるが、それらの実体は不明である。

私たちは、そのようなアクチン制御因子を同定し、その活性がどのようにエンドソーム経路と関連しているのかを明らかにすることにより、細胞極性化の過程で広く観察される膜輸送系による細胞骨格系制御機構に対する新たな知見を提供できるのではないかと期待している。今回行った Vasa タンパク質の局在を指標とした変異体のスクリーニングからは Rbsn-5 の他に、アクチン骨格やエンドサイトーシスの制御に関わる因子が多数単離されている。これらの因子の解析により、生殖質因子を後極につなぎ止める機構の理解が進むことが期待される。

- 1) Extavour, C.G. & Akam, M. (2003) *Development*, 130, 5869–5884.
- 2) St Johnston, D. (2005) *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 6, 363–375.
- 3) Markusen, F.H., Michon, A.M., Breitwieser, W., & Ephrussi, A. (1995) *Development*, 121, 3723–3732.

- 4) Breitwieser, W., Markusen, F.H., Horstmann, H., & Ephrussi, A. (1996) *Genes Dev.*, 10, 2179–2188.
- 5) Vanzo, N.F. & Ephrussi, A. (2002) *Development*, 129, 3705–3714.
- 6) Weisman, L.S. & Wickner, W. (1992) *J. Biol. Chem.*, 267, 618–623.
- 7) Webb, G.C., Zhang, J., Garlow, S.J., Wesp, A., Riezman, H., & Jones, E.W. (1997) *Mol. Biol. Cell*, 8, 871–895.
- 8) Nielsen, E., Christoforidis, S., Uttenweiler-Joseph, S., Miaczynska, M., Dewitte, F., Wilm, M., Hoflack, B., & Zerial, M. (2000) *J. Cell Biol.*, 151, 601–612.
- 9) Tanaka, T. & Nakamura, A. (2008) *Development*, 135, 1107–1117.
- 10) Jankovics, F., Sinka, R., & Erdélyi, M. (2001) *Genetics*, 158, 1177–1188.
- 11) Dollar, G., Struckhoff, E., Michaud, J., & Cohen, R.S. (2002) *Development*, 129, 517–526.
- 12) Vanzo, N., Oprins, A., Xanthakis, D., Ephrussi, A., & Rabouille, C. (2007) *Dev. Cell*, 12, 543–555.
- 13) Jankovics, F., Sinka, R., Lukácsovich, T., & Erdélyi, M. (2002) *Curr. Biol.*, 12, 2060–2065.
- 14) Polesello, C., Delon, I., Valenti, P., Ferrer, P., & Payre, F. (2002) *Nat. Cell Biol.*, 4, 782–789.
- 15) Babu, K., Cai, Y., Bahri, S., Yang, X., & Chia, W. (2004) *Genes Dev.*, 18, 138–143.

田中 翼, 中村 輝

(理化学研究所 発生・再生科学総合研究センター,
生殖系列研究チーム)

Roles of vesicle trafficking in *Drosophila* germ plasm assembly

Tsubasa Tanaka and Akira Nakamura (Laboratory for Germline Development, RIKEN Center for Developmental Biology, 2–2–3 Minatojima-minamimachi, Chuo-ku, Kobe, Hyogo 650–0047, Japan)

DNA鎖間架橋 (ICL) の修復機構

はじめに

生命の遺伝情報を担うゲノム DNA は外的・内的要因により絶え間なく損傷を受けている。DNA 損傷はそのまま固定されると、突然変異の原因となり、ひいてはがんなどの疾患を引き起こす可能性がある。細胞は DNA 損傷に対する防御機構を備えており、DNA 修復はその一つである。DNA 鎖間架橋 (interstrand crosslink; ICL) は細胞にとって最も重篤な DNA 損傷であるが、他の DNA 修復系に比

べ分子レベルでの理解があまり進展していない。その理由として、ICL修復が単一経路でないこと、細胞内のICL修復を反映するよい生化学的アッセイ系が存在しないことなどが挙げられる。

以前からICL修復は細胞周期S期やDNA複製との関連が指摘されている。最近、アフリカツメガエル*Xenopus*卵抽出液無細胞DNA複製系を用いてICL修復を直接解析した報告がなされ、多くの知見がもたらされた。また、高等真核細胞のICL修復経路の中では、ファンコニ貧血(Fanconi anemia; FA)経路の研究の進展がめざましい。FA遺伝子は現在13個の原因遺伝子が同定されている(*FANCA*, *B*, *C*等)が、最も新規なFA経路分子FANCIの解析から、筆者らはFANCIリン酸化によるFA経路の活性化機構を明らかにした。本稿ではこの二つのトピックを中心に紹介したい。

1. ICL修復とは

ICLは二本鎖DNA間が共有結合でつながったDNA損傷であり、遺伝子の転写、DNA複製などを阻害するため、細胞にとって最も重篤なDNA損傷である。事実、ICL修復に欠損があると、バクテリアや酵母では1個のICLで、ほ乳類細胞では40個のICLで致死になると報告されている¹⁾。その性質を利用して、臨床ではマイトマイシンC(MMC)、シスプラチニ等のDNAクロスリンク薬剤が抗がん剤として広く利用されている^{1,2)}。また、ICL修復遺伝子の変異が早老症、がんなどの疾患の原因となる例が報告され、ICL修復と染色体安定性、加齢などの密接な関連が明らかになってきた^{4~7)}。

ICL修復は単一経路ではなく、複数のDNA修復経路が関与し、さらにクロストークが存在するため、よく研究されている大腸菌(*E. coli*)と酵母(*S. cerevisiae*)を比較してもその機構は大きく異なる。生化学的解析と遺伝学的解析から、大腸菌のICL修復の主要経路はヌクレオチド除去修復(nucleotide excision repair: NER)と相同組換え(homologous recombination: HR)であり、これらが協調的に働く^{1,3)}。酵母の場合、遺伝学的解析から少なくともNER(*RAD3^{XPD}*経路)、HR(*RAD52*経路)、複製後修復(post replication repair: PRR, *RAD6*経路)の三つの主要経路が必要である^{1,3)}。なお、本稿では遺伝子・タンパク質の名称は基本的にヒトの名称を使用し、酵母などで名称が異なる場合は右肩にヒト・ホモログの名称を付した。

NER経路は、まず酵母*RAD4^{XPC}*-*RAD23^{RAD23B}*と酵母*RAD14^{XPA}*による損傷認識、それに続く酵母*RAD10^{ERCC1}*-*RAD1^{XPF}*

と酵母*RAD2^{XPG}*ヌクレアーゼによる損傷の近傍への切り込み反応(incision)、続いて損傷除去を行う^{1~7)}。なお、XPはヒトの色素性乾皮症(xeroderma pigmentosum)患者、*ERCC*はチャイニーズハムスターCHO細胞由来のDNA修復欠損細胞を相補する遺伝子(excision repair cross-complementing rodent repair deficiency)として単離された経緯に由来する。

PRRはDNAポリメラーゼが損傷に遭遇し停止した際に複製の再開始を行う機構であり、PRRはさらに損傷バイパス(translesion synthesis: TLS)とHRの二つの経路に分岐する。TLSはRAD6-RAD18ユビキチン化酵素と損傷バイパスDNAポリメラーゼを用い、損傷の存在する塩基の複製をひとまず完了する機構である。TLSではゲノムに残存した損傷は後に別の機構で除かれる。HRは組換え反応を用い、損傷のない娘DNAを鋳型としてヌクレオチドギャップを合成する^{1~7)}。

これらに加えて、酵母では*PSO*(psoralen sensitive)、*SNM*(sensitivity to nitrogen mustard)等のICL薬剤感受性変異体が複数単離されている^{1,3)}。例えば、*PSO1*遺伝子産物はTLS DNAポリメラーゼ ζ を構成するREV(reversionless)3タンパク質である。*PSO2/SNM1*はヌクレアーゼであるが、酵母*pso2*変異体はICLの切り込み反応やDNA複製反応に依存したDNA二重鎖切断(DNA double strand breaks: DSBs)の形成は正常であり^{1,3)}、これ以降の反応に欠損があると予想されるが、その作用点は明らかではない。

2. 高等生物のICL修復

高等真核生物のICL修復はさらに複雑であり、実体はよくわかっていない。その原因として、遺伝子パラログの存在(*RAD6*, *RAD51*, *SNM1*など)や、原核生物や下等真核生物に存在しないFA経路などの寄与が挙げられる。

ニワトリDT40細胞を用いた遺伝解析から、脊椎動物細胞のICL修復には、HR, TLS, FA, SNM1の少なくとも4経路が存在する^{7~9)}。中でもTLSの損傷バイパスDNAポリメラーゼ遺伝子をコードする遺伝子の変異細胞、特にREV1, DNAポリメラーゼ ζ (REV3とREV7)と、FA経路遺伝子の変異細胞はとりわけICL薬剤感受性が高い^{7~9)}。FAについては後に詳しく述べる。

脊椎動物のSNM1遺伝子は三つ存在し⁸⁾、いずれも β -CASP/メタロ- β -ラクタマーゼ(metallo- β -lactamase)ドメインをもつヌクレアーゼである。ICL修復にはSNM1A, SNM1B/Apolloが関与し、SNM1C/ArtemisはDSB修復に

関与する。SNM1A ノックアウトマウスは腫瘍を形成するが、ICL 修復における SNM1A の作用点は不明である。SNM1A の ICL 修復機能と核内フォーカス形成は、SNM1A のスクレアーゼドメイン (SNM1 ドメイン) が必須であり、これらの機能発現には SNM1 ドメインへの SUMO 化酵素 PIAS1 の結合が必須であるが⁸⁾、その生理的意義は明らかではない。我々は SNM1B/Apollo は染色体テロメアに存在し、テロメア末端に結合し末端を保護しているシェルタリン (shelterin) 複合体の構成要素 TRF2 と直接結合していることが報告されている⁴⁾。SNM1B と TRF2 はテロメア部位以外にも存在する。既に、我々は SNM1B が ICL 修復において明らかに SNM1A と別経路で働くことを示しているが⁸⁾、その詳細は不明である。

ほ乳類細胞の解析から、ICL 修復における他の修復経路の関与も明らかである。一つは XPF/MUS (mutagen-sensitive) 81 ファミリーに属する XPF-ERCC1, MUS81-EME1 であり、どちらも特定の DNA 構造に特異的に作用するヘテロ二量体のエンドスクレアーゼである⁵⁾ (先に書いた方が触媒サブユニット、後が調節サブユニット)。XPF-ERCC1 は NER 因子であるが、酵母の場合と異なり、脊椎動物細胞では XPF-ERCC1 以外の NER 因子は ICL 感受性ではない^{1~6)}。MUS81 は DNA 複製に伴う ICL 損傷部位の DSB の形成に必要であり^{5,10)}、どちらも ICL 近傍の切り込み反応に関与すると考えられている。ごく最近同定された SLX (synthetic lethal of unknown function) 4 は、構造特異的なスクレアーゼ SLX1 と結合する調節サブユニットであるが、SLX4 は異なる領域で MUS81-EME1 や XPF-ERCC1 とも結合するスキヤフォールド (足場) タンパク質であった^{11~14)}。ヒト細胞での SLX4 遺伝子抑制による ICL 感受性がすでに示されており^{11~13)}、今後の展開に注目しておきたい。

他にも、ヒトの早老症として有名なウエルナー症候群 (Werner syndrome) 患者細胞の ICL 感受性が知られている。その原因遺伝子 WRN は RecQ ファミリータイプの DNA ヘリカーゼをコードしている。ICL 修復と WRN の関連を示す知見は、まず、ICL 損傷の初期修復反応におけるヒト PSO4 複合体と WRN の相互作用が知られている。ICL による複製フォーク停止部位において WRN と HR 因子である RAD51, RAD54, RAD54B とチェックポイントキナーゼ ATR (ataxia-telangiectasia- and Rad3-related) が巨大複合体を形成することが報告されている^{3,4)}。

ICL 修復因子と早老症の関連は他にも見られる。例えば、ヒトの色素性乾皮症 (XP) で早老症の症状を併せ持

つ例が報告された^{5,6)}。この患者は XPF 遺伝子に変異があり、そのため ERCC1 と結合できず、NER と ICL 修復のどちらにも欠損が見られた。通常の XP 患者細胞は NER 欠損を示すが、多くの場合 ICL 修復はほぼ正常である。マウスモデルはこの事実と良く一致する。ERCC1 と XPF のノックアウトマウスはいずれも早老症の症状が見られたが、NER 経路の他のノックアウトマウスではこれらの症状は観察されない^{5,6)}。さらに、ERCC1 ノックアウトマウス細胞では、寿命・加齢の指標として他のモデル生物でもよく研究されているインシュリン/IGF-1 (insulin-like growth factor 1) の産生やテロメア長に異常が見られた^{5,6)}。

これまでの遺伝解析や修復タンパク質の生化学的解析の知見をもとに高等真核細胞の ICL 修復モデルが提唱されている^{2,6,15)} (図 1 左)。まず、ICL 修復は (一つの) DNA 複製フォークが ICL で停止することより開始される。スクレアーゼ MUS81-EME1 あるいは XPF-ERCC1 が親鎖の片側鎖の ICL の両側に切り込みをいれる。結果として DSB がおこり、複製により生じた一つの姉妹染色分体 (sister chromatid) が分離される。切り込み反応により生じた親ストランドは TLS ポリメラーゼにより、残った損傷を乗り越えて伸長し、損傷は後のステップでおそらく NER 因子により除去される。最終的に、HR により複製フォークは再構成される。ただし、これはあくまで仮想されたモデルに過ぎない。

3. DNA 複製に依存した ICL 修復系

ICL 修復は細胞周期 S 期に活性化され、DNA 複製とのカップリングを示唆する知見が蓄積しているが^{1~3,6)}、これまでの ICL 修復の検証では、S 期を反映したアプローチとは言い難い。Xenopus 卵抽出液は Cdk2 依存的な DNA 複製開始を示すなど S 期の生理的な状態により近いと考えられる。Walter らは、この Xenopus 卵抽出液と特定部位に一つの ICL 損傷を持つプラスミド基質を使用し、DNA 複製にカップルした *in vitro* ICL 修復系を構築した¹⁵⁾。これまでの ICL 薬剤に対する細胞感受性実験と異なり、この実験系では、基質は ICL 以外の DNA 損傷を持たないため、ICL 修復をより直接的に解析できる。解析により得られた知見とそのモデルを示す (図 1 右)。

まず、ICL 損傷部位に二つの DNA 複製フォークの集積が見られた。両フォークのリーディング鎖が ICL の手前 20~40 nt で停止し、ラギング鎖も停止していた。しばらくして、二つのリーディング鎖のうち一つが ICL の数スクレオチド内まで伸長し、新生リーディング鎖は ICL より 1

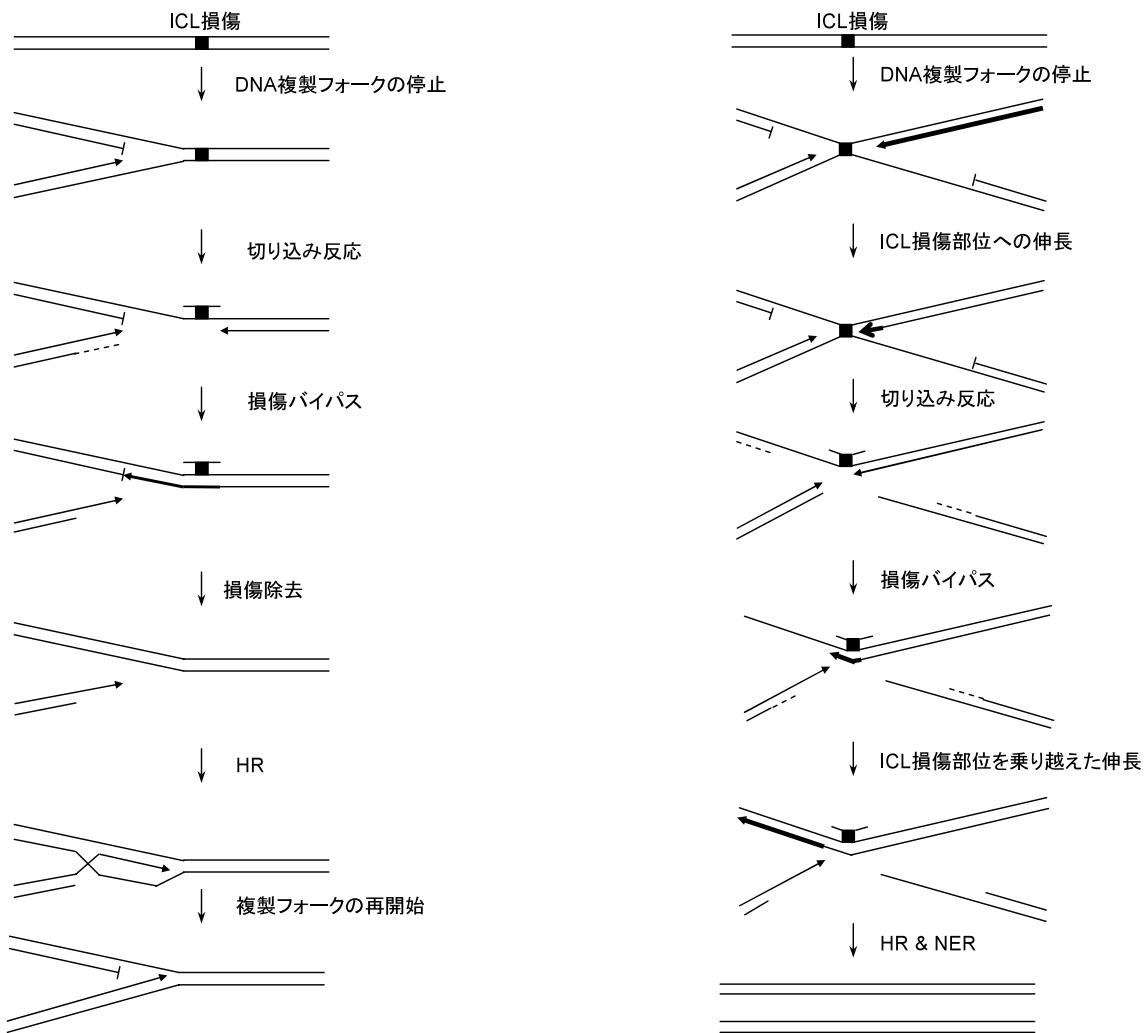


図1 高等真核生物の細胞周期S期のICL修復モデル

左：遺伝学的、生化学的知見から構築された従来モデル^{2,6)}。ICL損傷に複製フォークは一つ。ICL損傷部位では、切り込み反応が完了しないとDNA鎖の伸長ができないことに注意。詳細は本文を参照。文献15より改変。右：文献15より提示された新モデル。ICL損傷に両側から複製フォークが二つ来ている。詳細は本文を参照。文献15より改変。

塩基先に伸長する。時間をおいて、ICL近傍の切り込み反応により姉妹染色分体が離れDSBがおこる。そのすぐ後、新生リーディング鎖はICLを超えて伸長し、下流にある最初の岡崎フラグメントと結合する。この伸長反応はDNAポリメラーゼζ (REV7) 依存的であった。つまり、従来モデル(図1左)と違い、損傷バイパス反応は新生リーディング鎖におこり、ICLの切り込み反応の前に損傷バイパス機構が開始される。

始めのフォーク停止後には一体何がおこっているだろうか？おそらく複製装置のリモデリングであると思われ

る。次の段階でリーディング鎖がICL損傷の1-4 bp手前まで伸長できることを考えると、MCM (maintenance of minichromosome) 2-7 DNAヘリカーゼは複製装置からは離れる必要がある。2回目のフォーク停止はTLSポリメラーゼがリクルートされるための時間と思われる。さらに新生リーディング鎖が伸長され、この反応がDNAポリメラーゼζ (REV7) 依存性¹⁵⁾であることと、ICL感受性細胞の解析結果を考慮すると、最初にリクルートされるTLSポリメラーゼはおそらくREV1であると推測される。

この論文で提示された新モデルと従来モデルの大きな違

いは、ICL 損傷に二つの複製フォークがあること、新生リーディング鎖が伸長されること、損傷バイパスが切り出し反応の前におこることである。では、その利点は何であろうか？ MUS81 のフォーク上の作用点⁵⁾を考慮に入れるに、新モデルでは、リーディング鎖上の複製ポリメラーゼ（あるいは TLS ポリメラーゼ）はフォーク上に連続して存在でき、切り込み反応のスクレアーゼはフォーク上で同時に働くことが可能である。一方、従来モデルでは、ICL 損傷部位で複製ポリメラーゼ、スクレアーゼ、TLS ポリメラーゼが順次置き換わる必要があり、さらに DNA 鎖の伸長反応のためには新たに DNA 複製装置のリクルートが必要となり、非常に効率の低いモデルを考えねばならない。

この論文では ATR や FANCD2 の活性化など ICL 修復に伴う細胞内の状況を反映するデータも提示され¹⁵⁾興味深い。PCNA (proliferation-associated nuclear antigen) のユビキチン化と各段階で予想されるポリメラーゼスイッチとの対応など、今後の解析が楽しみである。しかし、この論文の中核である「ICL 損傷部位での二つの複製フォークの存在」が用いた DNA 基質の構造や *Xenopus* の *in vitro* 複製系という特殊な実験系に由来するのか、実際に通常の細胞内でもおこっている普遍的な現象なのかという疑問が残る。今後、ヒト細胞などでの検証が必要であろう。

4. FA 経路活性化の新規モデル：FANCI リン酸化による FA 経路の分子スイッチ

高等真核生物の ICL 修復の特徴は FA 経路の存在である。FA は、臨床的には骨格異常、進行性の先天性骨髄不全、白血病・扁平上皮性などの高発がん性の病態を示し、ゲノム不安定症候群に分類される。患者由来の細胞は、DNA クロスリンク薬剤に高感受性を示し、ICL 薬剤により特徴的な染色体断裂を高頻度に認める。これらの特徴は FA の診断基準でもある^{6,7)}。

FA 遺伝子は現在 13 の相補性群に分類され、その全ての原因遺伝子が同定されている。その産物は FA コア複合体と呼ばれるユビキチン E3 リガーゼ複合体を形成するなど、協調して機能すると考えられ、これを FA 経路と呼んでいる^{6,7)}（図 2）。

プロテオミクス解析により ATR/ATM (ataxia telangiectasia mutated) キナーゼの生理基質候補として同定された FANCI は最も新規な FA 経路の構成因子であり、FA 経路のキーファクターである FANCD2 のパラログである。両者は会合し、D2-I 複合体を形成する。DNA ダメージや S 期ストレスにより、FANCI は FANCD2 と同様モノユビキ

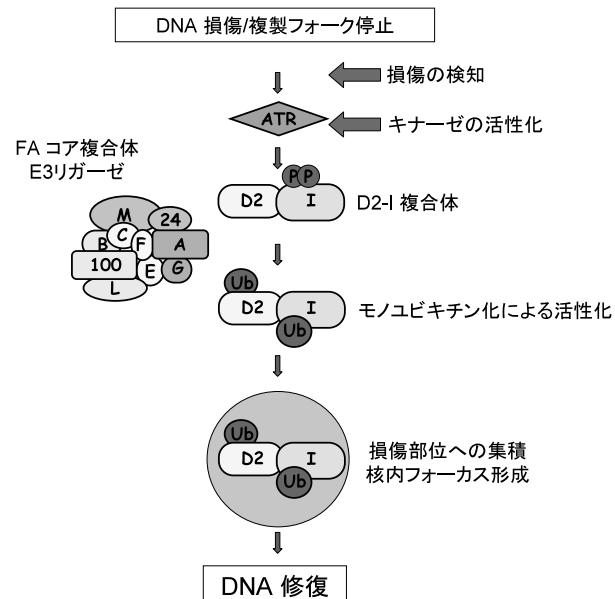


図 2 ファンコニ貧血経路活性化モデル
詳細は本文を参照。

チ化され、クロマチン移行する。細胞生物学的には、これらのタンパク質の核内の局所的なドット状の集積、所謂、核内フォーカスとして観察される^{6,7)}。これは、DNA 損傷部位への DNA 修復タンパク質の集積を反映したものと考えられている。

我々は DT40 細胞を用いて *fanci* 欠損細胞を作製し、FANCI のモノユビキチン化の生理的意義を検討した¹⁶⁾。FANCI のモノユビキチン化は FA 経路の活性化に必須な FANCD2 のモノユビキチン化に影響せず、FANCI のフォーカス形成や ICL 薬剤感受性に重要ではなかった。これらのことから、FANCI のモノユビキチン化は、FANCD2 とは異なり、FA 経路の活性化に必須ではないと結論した¹⁶⁾。

それでは、FANCI の生理機能の調節はどのように行われているのであろうか？ FANCI は ATM/ATR キナーゼの基質として報告され、ATM/ATR は Ser/Thr-Gln (S/TQ) 部位をリン酸化することが知られている^{7,8)}。ヒトとトリ FANCI を比較すると 8 個の S/TQ 部位が保存されておりそのうち 6 個は 70 アミノ酸領域に集中している¹⁶⁾（図 3）。

我々は、これら 6 個を全てリン酸化できない Ala に置換した変異体 (Ax6) を作製し、*fanci* 欠損細胞に発現させた（図 3）。FANCI Ax6 発現細胞は、ICL 薬剤感受性、染色体異常、核内フォーカス形成を相補できず、Ax6 は FANCI の機能を失ったものと考えられる。一方、6 個を全

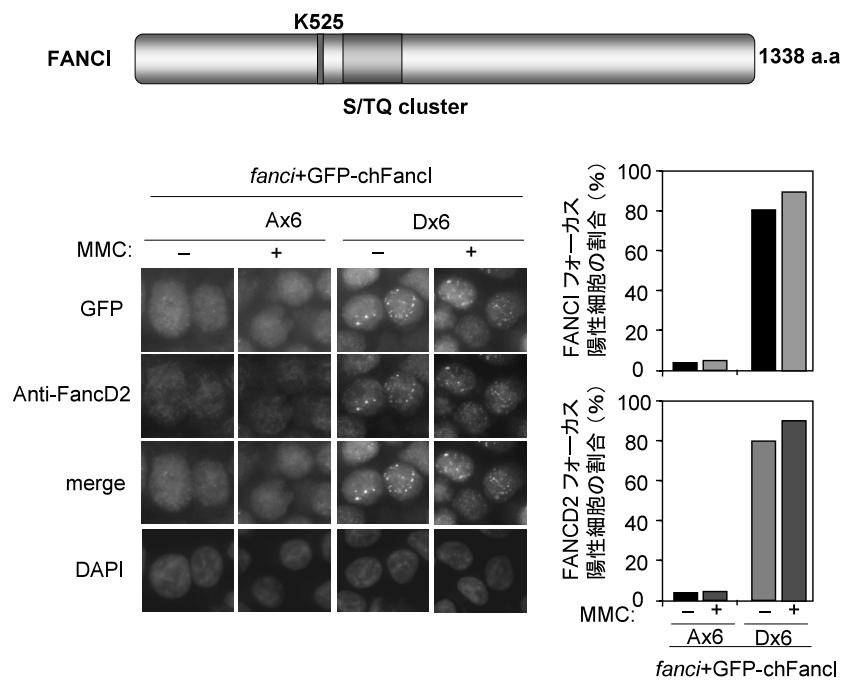


図3 FANCIの構造とFANCIリン酸化部位変異体の核内フォーカス形成
上：トリFANCIの構造。S/TQクラスターの6個のSerを同時にAla(Ax6)またはAsp(Dx6)に置換した。Ax6：リン酸化がおこらない変異体、Dx6：リン酸化状態を反映したリン酸化ミック変異体。
下：GFP-FANCI Ax6またはDx6の核内フォーカス。GFP-FANCIはマイトマイシンC(MMC)によるDNAダメージ依存的に活性化され核内にフォーカスを形成する¹⁶⁾(データ省略)。Ax6はDNAダメージ存在下でもFANCI, FANCD2共にフォーカスが形成されないが、Dx6ではDNAダメージの有無によらずFANCI, FANCD2フォーカスが形成され、FA経路の恒常的な活性化を示している。

てリン酸化状態を反映するAspに置換したリン酸化ミック変異体(Dx6)はICL薬剤感受性や染色体異常を野生型と同程度まで回復した。また、*FANCI* Dx6細胞では、DNAダメージの有無にかかわらず、恒常的にFANCI, FANCD2のモノユビキチン化が見られ、両者のフォーカス形成も見られた¹⁶⁾(図3)。

以上のことから、我々は、FANCIのリン酸化がFA経路「分子スイッチ」として機能し、FA経路のキーイベントであるFANCD2のモノユビキチン化をもたらすという新たなFA経路の制御モデルを提唱した¹⁶⁾。

おわりに

FAを始めとする新規ICL修復因子の同定・解析や「停止した複製フォーク」に関する研究を含め、この数年でのICL修復研究の進展はめざましい。本稿で解説した「DNA複製にカップリングしたICL修復モデル」はICL修復制

御を考える上で大いに刺激的であり、これを転機としてその分子レベルの理解が深まることを期待したい。一方、ICL修復はS期以外にもおこることが知られており^{1,3)}、上のモデルだけでは説明がつかないのも事実である。紙面の都合で詳しく触れなかったが、ICL修復は塩基除去修復やミスマッチ修復などの別のDNA修復経路、チェックポイント、DNA損傷シグナル伝達、クロマチン制御、ユビキチン化・SUMO化・リン酸化などのタンパク質修飾とも密接に関連する。

一方、臨床面に視線を移すと、ICLはがん化学療法の抗がん剤として広く使用され、がんや早老症などの疾患とも関連が深い。事実、*FANCD1/BRCA2*, *FANCI/BRIP1*, *FANCN/PALB2*は家族性がんの原因遺伝子でもある。高等真核生物のICL修復は複雑である。その研究がDNA修復・ゲノム安定性研究の新たな展開をもたらすと共に、その破綻が引きおこす疾患の病態理解や新たな治療・診断

の開発の手がかりとなることを期待している。

脱稿後、別グループからの同様な *Xenopus* 卵抽出物と ICL 基質 DNA を用いた *in vitro* 系の解析結果が報告された¹⁷⁾。2つの論文では異なる ICL 基質を用いているが、本稿で解説した Raschle 等の論文¹⁵⁾では p27^{Kip} による複製開始阻害で ICL 修復が抑制されたのとは対照的に、この文献¹⁷⁾では Geminin とロスコビチン (roscovitine) 处理による DNA 複製開始阻害に ICL 修復反応は抵抗性であると報告している。つまり、ICL 修復は DNA 複製に依存する系としない系が存在する。他にも、ICL 損傷はチェックポイント・シグナルを生じさせ、それは DNA 複製フォークの形成やヘリカーゼ、DNA ポリメラーゼとは独立であること、FA は ICL 損傷の修復だけでなくチェックポイントへの寄与も大きいこと、FA は RPA-ATR-Chk1 チェックポイント・シグナルの上流であることなどが報告されている¹⁷⁾。細胞周期などの細胞の特性、DNA 損傷による基質 DNA の構造変化、用いるアッセイ系の特徴などの様々なパラメーターを考慮に入れたデータの比較・検証が必要であるが、他の論文データとの整合性を含め、しばらく目が離せない状況である。

- 1) Dronkert, M.L.G. & Kanaar, R. (2001) *Mutation Res.*, 486, 217–247.
- 2) McHugh, P.J., Spanswick, V.J., & Hartley, J.A. (2001) *Lancet Oncol.*, 2, 483–490.
- 3) Lehoczky, P.L., McHugh, P.J., & Chovanec, M. (2007) *FEMS Microbiol. Rev.*, 31, 109–133.
- 4) Grillari, J., Katinger, H., & Voglauer, R. (2007) *Nucleic Acids Res.*, 35, 7566–7576.
- 5) Ciccia, A., McDonald, N., & West, S.C. (2008) *Annu. Rev. Biochem.*, 77, 259–287.
- 6) Wang, W. (2007) *Nature Rev. Genetics*, 8, 735–748.
- 7) Takata, M., Ishiai, M., & Kitao, H. (2009) *Mutation Res.*, 668, 92–102.
- 8) Ishiai, M., Kimura, M., Namikoshi, K., Yamazoe, M., Yamamoto, K., Arakawa, H., Agematsu, K., Matsushita, N., Takeda, S., Buerstedde, J.-M., & Takata, M. (2004) *Mol. Cell. Biol.*, 24, 10733–10741.
- 9) Nojima, K., Hochegger, H., Saberi, A., Fukushima, T., Kikuchi, K., Yoshimura, M., Orelli, B.J., Bishop, D.K., Hirano, S., Ohzeki, M., Ishiai, M., Yamamoto, K., Takata, M., Arakawa, H., Buerstedde, J.-M., Yamazoe, M., Kawamoto, T., Araki, K., Takahashi, J.A., Hashimoto, N., Takeda, S., Sonoda, E. (2005) *Cancer Res.*, 65, 11704–11711.
- 10) Hanada, K., Budzowska, M., Davis, S.L., van Drunen, E., Onizawa, H., Beverloo, H.B., Maas, A., Essers, J., Hickson, I.D., & Kanaar, R. (2007) *Nature Struct. Mol. Biol.*, 14, 1096–1104.
- 11) Svendsen, J.M., Smogorzewska, A., Sowa, M.E., O'Connell, B. C., Gygi, S.P., Elledge, S.J., & Harper, J.W. (2009) *Cell*, 138, 63–77.
- 12) Fekairi, S., Scaglione, S., Chahwan, C., Taylor, E.R., Tissier, A., Coulon, S., Dong, M.-Q., Ruse, C., Yates III, J.R., Russell, P., Fuchs, R.P., McGowan, C.H., & Gaillard, P.-H. (2009) *Cell*, 138, 78–89.
- 13) Muñoz, I.V., Hain, K., Déclais, A.-C., Gardiner, M., Toh, G. W., Sánchez-Pulido, L., Heuckmann, J.M., Toth, R., Macartney, T., Eppink, B., Kanaar, R., Ponting, C.P., Lilley, D.M.J., & Rouse, J. (2009) *Mol. Cell*, 35, 116–127.
- 14) Andersen, S.L., Bergstrahl, D.T., Kohl, K.P., LaRocque, J.R., Moore, C.B., & Sekelsky, J. (2009) *Mol. Cell*, 35, 128–135.
- 15) Raschle, M., Knipsheer, P., Enoui, M., Angelov, T., Sun, J., Griffith, J.D., Ellenberger, T.E., Scharer, O.D., & Walter, J.C. (2008) *Cell*, 134, 969–980.
- 16) Ishiai, M., Kitao, H., Smogorzewska, A., Tomida, J., Kinomura, A., Uchida, E., Saberi, A., Kinoshita, E., Kinoshita-Kikuta, E., Koike, T., Tashiro, S., Elledge, S.J., & Takata, M. (2008) *Nature Struct. Mol. Biol.*, 15, 1138–1146.
- 17) Ben-Yehoyada, M., Wang, L.C., Kozekov, I.D., Rizzo, C.J., Gottesman, M.E., & Gautier, J. (2009) *Mol. Cell*, 35, 704–715.

石合 正道

(京都大学放射線生物研究センター晚発効果研究部門
DNA 損傷シグナル研究分野)

DNA interstrand crosslink repair in vertebrate cells

Masamichi Ishiai (Laboratory of DNA Damage Signaling, Department of Late Effect Studies, Radiation Biology Center, Kyoto University, Yoshidakonoe-cho, Sakyou-ku, Kyoto, Kyoto 606-8501, Japan)

TRIC チャネルの生理的機能

1. はじめに

細胞質の Ca^{2+} 濃度上昇は、細胞外からの Ca^{2+} 流入と細胞内ストアからの Ca^{2+} 放出により構成される。多機能オルガネラである小胞体はタンパク質合成・修飾、脂質合成、小胞体ストレス反応などに加えて、細胞内 Ca^{2+} ストアとしても機能しており、 Ca^{2+} シグナル形成に深く寄与する。小胞体が Ca^{2+} ストアとしての機能を発揮するためには、 Ca^{2+} 取り込み、 Ca^{2+} 貯蔵、 Ca^{2+} 放出を担当する分子群とともに、その分子群の働きを調節または支援する分子機構が必要となる。小胞体 Ca^{2+} 放出を担うチャネルとしては、一般的に細胞質側の Ca^{2+} 濃度上昇を感知して活性化するリアノジン受容体チャネル (RyR) と、リン脂質代謝