

行することは疑いようがない。それと同時に、我々にとっても遺伝子解析から得られる結果がさらに身近になり、様々な場面で生活に利用される機会が増えることが予想される。一方で、そのような遺伝子解析技術の発展とも並行して、医薬、工学分野において核酸が有効な素材としての役割を果たすことで、その応用範囲がさらに広がる可能性も高い。しかしながら、こうした広範な需要に対応するには、品質と性能が均質な核酸が、より安価で安定して供給されなければならない。今回我々が開発した試薬は、そのような現実的需要の一部に応じるものであると考えている。今後も核酸の潜在的性質を引き出すような修飾技術を開発し、未知な応用分野に対しても核酸の利用を進めたいと考えている。

小松 康雄

(独立行政法人 産業技術総合研究所

生物プロセス研究部門 生体分子工学研究グループ)

Development of terminal or internal chemical modifications of nucleic acids

Yasuo Komatsu (Bioproduction Research Institute, National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST), 2-17-2-1 Tsukisamu-Higashi, Toyohira-ku, Sapporo, 062-8517 Japan)

## DNA 損傷応答機構によるテロメアの維持

### はじめに

真核生物の染色体は直線状であるが、その両末端部位はテロメア (telomere) と呼ばれる。テロメアは、特徴的な繰り返し配列をもつ DNA と、そこに局在するタンパク質からなる。DNA 損傷によって生じた DNA 二本鎖切断 (double-strand break) は、DNA 損傷応答 (チェックポイントおよび損傷修復) を引き起こす。一方、テロメアの DNA 末端は生理的なものであるため、チェックポイントおよび修復機構による認識から逃れる。しかし、細胞はテロメアの維持のために、DNA 損傷応答機構を巧妙に利用していることが明らかになりつつある。

### 1. 二本鎖切断末端修復機構

DNA 二本鎖切断は重篤な DNA 損傷であり、その修復機構は制限酵素により生じた DNA 末端を DNA リガーゼでつなぎあわせるような単純なものでない。そのため、生物は、大きく分けて、相同組換え (homologous recombination) と非同末端結合 (non homologous end joining) と呼ばれる二つの機構を備えている<sup>1)</sup>。二本鎖切断の修復は、Mre11-Rad50-Nbs1<sup>脚注1</sup> (MRN) 複合体が DNA 末端を認識することにより開始される。Mre11 は、エキソヌクレアーゼ活性、また、Rad50 は、ATPase 活性を持つ。一方、Nbs1 には酵素活性は見いだされていない。MRN 複合体の機能は大きく分けて三つある。一つは、DNA 二つの末端をで

- 1) Wolfrum, C., Shi, S., Jayaprakash, K.N., Jayaraman, M., Wang, G., Pandey, R.K., Rajeev, K.G., Nakayama, T., Charrise, K., Ndungo, E.M., Zimmermann, T., Koteliansky, V., Manoharan, M., & Stoffel, M. (2007) *Nat. Biotechnol.*, 25, 1149-1157.
- 2) Gorodetsky, A.A., Buzzeo, M.C., & Barton, J.K. (2008) *Bioconjug. Chem.*, 19, 2285-2296.
- 3) Guo, Z., Guilfoyle, R.A., Thiel, A.J., Wang, R., & Smith, L. M. (1994) *Nucleic Acids Res.*, 22, 5456-5465.
- 4) Benters, R., Niemeyer, C.M., & Wohrle, D. (2001) *ChemBiochem.*, 2, 686-694.
- 5) Emson, P.C., Arai, H., Agrawal, S., Christodoulou, C., & Gait, M.J. (1989) *Methods Enzymol.*, 168, 753-761.
- 6) Agrawal, S., Christodoulou, C., & Gait, M.J. (1986) *Nucleic Acids Res.*, 14, 6227-6245.
- 7) Kojima, N., Sugino, M., Mikami, A., Nonaka, K., Fujinawa, Y., Muto, I., Matsubara, K., Ohtsuka, E., & Komatsu, Y. (2006) *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 16, 5118-5121.
- 8) Komatsu, Y., Kojima, N., Sugino, M., Mikami, A., Nonaka, K., Fujinawa, Y., Sugimoto, T., Sato, K., Matsubara, K., & Ohtsuka, E. (2008) *Bioorg. Med. Chem.*, 16, 941-949.
- 9) Kojima, N., Takebayashi, T., Mikami, A., Ohtsuka, E., & Komatsu, Y. (2009) *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 19, 2144-2147.
- 10) Lhomme, J., Constant, J.F., & Demeunynck, M. (1999) *Biopolymers*, 52, 65-83.
- 11) Ide, H., Akamatsu, K., Kimura, Y., Michiue, K., Makino, K., Asaeda, A., Takamori, Y., & Kubo, K. (1993) *Biochemistry*, 32, 8276-8283.
- 12) Boturyn, D., Constant, J.F., Defrancq, E., Lhomme, J., Barbin, A., & Wild, C.P. (1999) *Chem. Res. Toxicol.*, 12, 476-482.
- 13) Kojima, N., Takebayashi, T., Mikami, A., Ohtsuka, E., & Komatsu, Y. (2009) *J. Am. Chem. Soc.*, 131, 13208-13209.

脚注 1 : NBS は、nijmegen breakage syndrome の略、Nbs1 は、nibrin とも呼ばれる。

きただけつなぎとめておくこと（これは Rad50 が担っている）。第二に、DNA 末端を削って一本鎖 DNA (single-stranded DNA) を DNA 末端につくこと。第三に、ATM (ataxia telangiectasia mutated) キナーゼをリクルートしてチェックポイント機能を活性化すること（これは Nbs1 が担う）である。ATM キナーゼの詳細に関しては、後述する。MRN 複合体は、真核生物全体において保存されており、出芽酵母では研究の経緯から Mre11-Rad50-Xrs2 (MRX) 複合体と呼ばれている。

非相同末端結合は、その修復過程において一本鎖 DNA を必要としないか、もしくは非常に短い相同性をもつ一本鎖 DNA をアニールさせることにより、DNA 切断末端を再結合させる。非相同末端結合は、MRN 複合体のほかに、Ku 複合体および非相同末端結合のために特別に使われる DNA リガーゼの機能を必要とする。Ku はヘテロ二量体で、二本鎖 DNA 末端に特異的に結合する。Ku も MRN と同様に真核生物で保存されている複合体タンパク質である。短い相同領域を利用して生じた二本鎖 DNA に隣接する一本鎖部位（ギャップ）は、DNA ポリメラーゼにより埋められ、非相同末端結合に特異的に機能する DNA リガーゼにより連結される。出芽酵母においては、MRX 複合体および Ku は、DNA リガーゼを末端にリクルートする機能があることがわかっている。

相同組換えは、非相同末端結合よりも長い相同性領域をもつ一本鎖 DNA を使った修復機構である。相同組換えには一本鎖 DNA に結合する Rad51 ファミリータンパク質 (RecA ホモログ) が関与するが、その結合を促進するため、MRN/MRX は他のヌクレアーゼと協調し、DNA 末端に長い一本鎖 DNA を形成する。まず MRN は CtIP/Sae2<sup>脚注2</sup> と共同して、DNA の 5'末端を分解して 3'末端をもつ短い一本鎖 DNA を作る。さらに、DNA 分解能の高いエキソヌクレアーゼ Exo1、ならびに、Sgs1/BLM<sup>脚注3</sup> ヘリカーゼと Dna2 ヌクレアーゼの共同作業が、より長い一本鎖 DNA を作っていく<sup>2)</sup>。出芽酵母では、MRX は Sgs1 および Dna2 の機能を促進することが示されている。高等動物の場合、CtIP は、Nbs1 と結合することにより DNA 末端にリク

ルートされるが、CtIP-Nbs1 間の結合は、ATM キナーゼによる CtIP のリン酸化に依存する<sup>3)</sup>。そのため高等動物細胞では、一本鎖 DNA の形成は、ATM キナーゼの活性化に依存すると考えられる。形成された一本鎖 DNA は、一本鎖 DNA 結合タンパク質である replication protein A (RPA) によりすみやかに覆われる。相同性をもつ部位を探すため、RPA は Rad51 に置き換えられる。Rad51-一本鎖 DNA 複合体はヌクレオプロテインフィラメントと呼ばれ、相同鎖検索交換反応を促進する。相同鎖を利用して、DNA ポリメラーゼは二本鎖切断の片側の DNA 鎖を合成する。さらに、DNA ポリメラーゼにより一本鎖部位を埋めたあと、DNA リガーゼによりニック部分が連結される。

テロメアの DNA 末端は生理的なものであるため、上記のような相同組換えならびに非相同末端結合が抑制されており、その構造は改変されることなく維持されている<sup>4)</sup>。従って、DNA の二本鎖切断末端にテロメアが付加されるとその DNA 末端は安定化される。しかし、切断された後のどちらかの側にセントロメア（さらには DNA 複製起点）を欠失する DNA 断片を生じるため、片方の DNA 断片は細胞分裂により失われてしまう。失われる染色体 DNA 上に、生存に必須の遺伝子が存在する場合は致死となってしまうので、二本鎖切断末端へのテロメアの付加という機構は修復とは呼ばれていない。

## 2. チェックポイント応答

細胞は、DNA 損傷が起きると、細胞周期の一時的停止、修復因子の転写上昇、さらに高等生物では、アポトーシス（細胞死）などの様々な生理学応答（チェックポイント応答）を引き起こす。これらの細胞応答は、DNA 修復の促進ならびに損傷のひどい細胞の除去に役立っている。チェックポイント応答はシグナル伝達であり、その活性化にはそれぞれ DNA 損傷の認識に関わるセンサーおよびその信号を細胞応答に変えていくトランスデューサーと呼ばれるタンパク質が機能している。高等動物では、センサーとして ATM キナーゼおよび ATR キナーゼ、またトランスデューサーとして Chk1 および Chk2 キナーゼが知られている。出芽酵母では、ATM および ATR は、それぞれ Tel1 および Mec1 に対応し、Chk1 および Chk2 に相当するキナーゼは、Chk1 および Rad53 である。

チェックポイント応答の活性化において、DNA 末端に結合した MRN/MRX 複合体は、ATM/Tel1 を二本鎖切断部位にリクルートする<sup>5,6)</sup>。また、一本鎖 DNA に結合した RPA も、ATR/Mec1 と結合し、ATR/Mec1 の二本鎖切断

脚注 2: CtIP は、CtBP-interacting protein の略 (CtBP は adenovirus E1A の C 末に結合するタンパク質に結合するタンパク質)。ヒトでは、CtIP とよばれるが、そのホモログは、出芽酵母では、Sae2、分裂酵母では Ctp1 である。

脚注 3: BLM は、Bloom 症候群の原因遺伝子産物。DNA ヘリカーゼである。

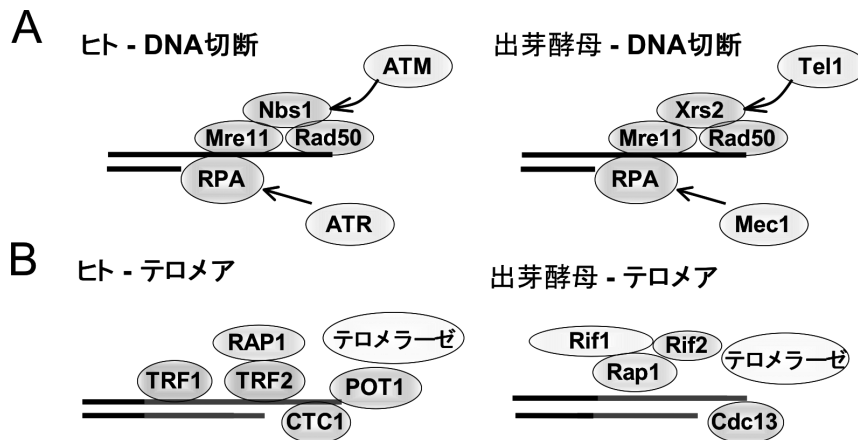


図1 二本鎖 DNA 切断部位とテロメア

- (A) 二本鎖切断部位には、チェックポイントを制御する ATM と ATR（およびそのホモログ）がリクルートされる。  
 (B) 特異的なタンパク質に覆われているテロメアは、二本鎖末端をもつが、ATM や ATR は、リクルートされない。  
 詳細は、本文を参照。

近辺へのリクルートを促進する<sup>7,8)</sup>。このため、二本鎖切断修復が完了しない場合は、チェックポイント機能の活性化が起こる。損傷を認識した ATM/Tel1 および ATR/Mec1 は、クロマチン上にあるヒストンやその他のタンパク質をリン酸化し、そのリン酸化を認識するメディエーターと呼ばれるタンパク質を、二本鎖切断近辺に集結させる。メディエーターとしては、ヒトでは MDC1、出芽酵母では Rad9 が知られている。さらに、ATM/Tel1 および ATR/Mec1 は集結したメディエーターをリン酸化して、下流で機能する Chk1 および Chk2/Rad53 を二本鎖切断近辺にリクルートする。Chk1 および Chk2/Rad53 はメディエーターと結合すること、ならびに ATM/Tel1 および ATR/Mec1 によりリン酸化されることによって活性化される。活性化された Chk1、Chk2/Rad53 は損傷部位から遊離し核内を動き回ることにより、さらに下流のターゲットをリン酸化する。このようなカスケードによって一連のチェックポイント応答（DNA 修復機能の活性化、細胞周期停止、細胞死）が引き起こされる。しかし、テロメアは生理的な DNA 末端であるので、このようなチェックポイント応答を引き起こすことはない（図 1）。

### 3. テロメア DNA に結合するタンパク質と DNA 複製および修復との関係

いろいろな生物のテロメアの解析から、テロメアの塩基配列は似通っていることが明らかにされている。テロメア DNA は、通常 5~8 bp の G に富む繰り返し配列からなっている<sup>9)</sup>。テロメア DNA は、二本鎖部位と DNA 末端側に存在する一本鎖部位からなるが、二本鎖部位の長さは生物により異なる。たとえば、繊毛虫 (*Oxytricha*) 20 bp、出芽酵母 200-300 bp、ヒト 5-15 kb などである。マウスはヒトよりずっと短命であるが、そのテロメアはヒトのものよりずっと長く、20-100 kb である<sup>10)</sup>。興味深いことに、研究に使われているマウスのテロメアは 100 kb であるのに対して、野生型のマウスのテロメアは、8-12 kb であることが知られている。ヒトでは、テロメア長と細胞寿命の関連が示唆されているが、野生型のマウスが、研究に使われるマウスより短命かどうかは不明である。

テロメアの二本鎖領域と一本鎖領域は、それぞれ塩基配列特異的なテロメア結合タンパク質により覆われている。ヒトのテロメアは、TTAGGG の繰り返し配列からなるが、その二本鎖領域には、TRF1 および TRF2<sup>脚注4)</sup> が結合している。TRF1 および TRF2 は、C 末にある Myb ドメインと呼ばれる DNA 結合ドメインを使って、テロメア DNA に結合する。TRF1 および TRF2 は、それぞれホモダイマーを形成するが、その結合は N 末にある homodimerization do-

脚注 4：TRF；telomere repeat binding factor

main を介している。TRF2 はさらに RAP1 と結合し、高次複合体を形成している。高等動物の RAP1 は、出芽酵母 Rap1 (後述) の相同タンパク質として単離されたが、出芽酵母 Rap1 と異なり DNA 結合能はない。一方、TRF1 および TRF2 は TIN2 と結合している。TIN2 は後述するテロメア一本鎖領域と結合するタンパク質との橋わたしをする。TRF1 の機能として、テロメア部位の DNA 複製を促進することが知られている。一方、TRF2-RAP1 複合体は、ATM チェックポイント活性化の障害、また非相同末端結合および相同組換え経路を抑制する。しかし、その詳細な制御機構は不明である。一本鎖領域には POT1-TPP1<sup>脚注5</sup> 複合体が結合する。POT1-TPP1 複合体は、リーディング鎖伸長のためのテロメラーゼをリクルートし、テロメア合成を促進する。一方、POT1-TPP1 複合体は、テロメア繰り返し配列をもつ一本鎖 DNA に非常に高い親和性を持ち、テロメア部位への結合を一本鎖 DNA 結合タンパク質 RPA と競合する。その結果、RPA と結合する ATR のリクルートメントは阻害される。さらに、テロメアの本鎖領域には、CTC1<sup>脚注6</sup>-STN1-TEN1 複合体 (出芽酵母 Cdc13-Stn1-Ten1 複合体に相当) が結合することによって、ラギング鎖合成のための DNA ポリメラーゼ  $\alpha$  をテロメア部位にリクルートすると考えられている<sup>11)</sup>。POT1-TPP1 複合体は、前述の TIN2 を介して二本鎖領域とも連絡している。

出芽酵母テロメアは、ヒトの繰り返し配列 TTAGGG とは異なり、TG の繰り返し配列 (TG リピート) からなる。二本鎖領域では、ヒト RAP1 と相同性をもつ Rap1 が、タンパク質の中央部に存在する二つの Myb ドメインを使って直接 DNA と結合する。また、Rap1 はその C 末を介して、Rif1 および Rif2 と複合体を形成し、それがテロメアの長さを負に制御するとともに、非相同末端結合を抑制している。高等動物において Rif1 ホモログは同定されているが、Rif2 に相当するタンパク質は見つかっていない。一本鎖領域では、CTC1-STN1-TEN1 複合体に相当する Cdc13-Stn1-Ten1 複合体が DNA と結合する。Cdc13 はテロメラーゼをリクルートする機能をもつと同時に、Stn1-Ten1 と共同でテロメアの DNA 末端をヌクレアーゼによる

攻撃から保護している (図 1)。また、Stn1 は、DNA ポリメラーゼ  $\alpha$  と結合するため、Cdc13-Stn1-Ten1 複合体も高等動物の CTC1-STN1-TEN1 複合体と同様にラギング鎖合成に関与すると考えられている。

#### 4. チェックポイントタンパク質による テロメアの維持機構

ATM キナーゼに機能不全がある血管拡張性失調症 (ataxia telangiectasia) の患者から得られた細胞では、染色体の欠損 (deletion) および再編成 (rearrangement)、放射線照射での DNA 損傷によるチェックポイント制御の異常とともに、テロメアの短小化が認められる。このことから、ATM はテロメア維持に重要な役割をもつことが示されていた。テロメア制御に対する ATM の重要性を決定づけたのは、出芽酵母においてテロメアが短くなる変異として得られていた *TEL1* 遺伝子の解析である<sup>12)</sup>。酵母を使った解析から、ATM および ATR ファミリータンパク質は損傷チェックポイントと同時にテロメア長の制御にも関与することが明らかにされ、さらに最近、マウス ATR のテロメア制御が示されて<sup>13)</sup>、真核生物において ATM および ATR がテロメアの維持に必須であるという概念が確立されてきている。

出芽酵母 Mec1 および Tel1 は、DNA 損傷時にチェックポイント応答を活性化するが、その活性化はテロメアの維持には必須ではない。出芽酵母の *rad53* 破壊細胞ではチェックポイント応答に異常が生じるが、テロメア長には影響が見られない。同様の結果が、分裂酵母の Chk1 および Chk2 ホモログである Chk1 と Cds1 の解析から得られている。では、ATM および ATR は、チェックポイント応答を活性化することなくどのようにしてテロメアを維持しているのだろうか？

出芽酵母の Tel1 によるテロメアの制御機構について研究が進み、その全容がわかりつつある。テロメアは、S 期後半に特異的に合成される。その合成に対応して、テロメラーゼの制御サブユニットが、リクルートされるため、当初 Mec1 と Tel1 は、テロメアに細胞周期依存的かつ相補的にリクルートされ、テロメア合成を促進するというモデルが提唱された。ヒトの ATM も G<sub>2</sub> 期に特異的にテロメアに集まることが示された。しかし、出芽酵母では Tel1 依存的に短いテロメアだけが伸長されるという結果が報告されて<sup>14)</sup>、研究は違う方向に発展した。Tel1 は正常な長さのテロメアには存在せず、短いテロメアを特異的に認識することが、いくつかの研究室から報告された。

脚注 5: POT1; 分裂酵母 pot1 (protection of telomere 1) のホモログである。TPP1; 当初はグループごとに PIP1, PTP, TINT1 と命名されたが、TPP1 と呼ばれることになった。GenBank 登録名は Adenocortical dysplasia (ACD)。

脚注 6: CTC1; conserved telomere maintenance component 1

短いテロメアは正常細胞でも存在する。では、どうして Tel1 は酵母におけるチェックポイントを活性化しないのか？ 実は、出芽酵母の DNA 損傷に対するチェックポイント応答には、Mec1 が主要な働きをしており、Tel1 はほとんど貢献しないので、この点については理解できる。残る疑問点としては、何故 Tel1 が短いテロメアに集まるか？ 逆に言えば、何故 Tel1 は通常の長さのテロメアに集まらないかということである。

我々は、Tel1 が MRX 複合体のサブユニット Xrs2 の C 末端に結合し、DNA 末端に局在することを明らかにしている<sup>5)</sup>。出芽酵母のテロメア長の制御には Rap1 とその結合タンパク質 Rif1 および Rif2 が関わっていることがわかっているが、我々は Rap1, Rif1 および Rif2 が協調して、Tel1 ならびに MRX 複合体の DNA 末端への集積を阻害していることを明らかにした (図 2)<sup>15)</sup>。その実験手法を要約すると、まず TetO という配列を認識する DNA 結合タンパク質である TetR を利用した解析系を構築した。Rap1, Rif1, Rif2 をそれぞれ TetR と融合し、各融合タンパク質を DNA 末端近傍に置いた TetO 配列に結合させ、Tel1 または MRX の DNA 末端への局在にどのように影響するか観察した。この実験系において、*rif1*, *rif2*, *tel1* の各種遺伝子破壊株を用いると、Rap1, Rif1, Rif2 の個別

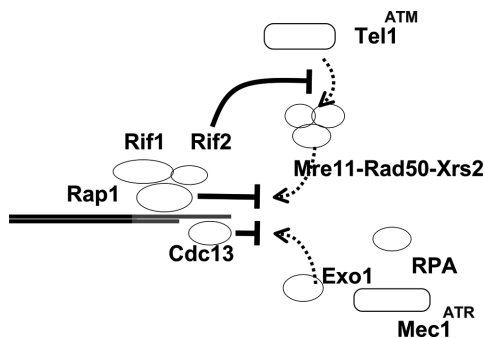


図 2 出芽酵母におけるテロメア結合タンパク質によるチェックポイントおよび修復タンパク質の阻害機構

Tel1 は二本鎖切断 DNA 末端に存在する Mre11-Rad50-Xrs2 (MRX) と相互作用する性質を有する。テロメアにおいては、Rif1 および Rif2 が、Tel1 の Xrs2 への結合を阻害している。Tel1 が DNA 末端から除去されると、次に、Rap1 が、MRX の DNA 末端への結合を邪魔するようになる。Cdc13 は、Stn1-Ten1 と複合体を形成し、テロメア最先端の一本鎖部位をカバーする。この図では、Stn1-Ten1 は省略してある。Mec1 は RPA と相互作用することにより、DNA 損傷部位に集束する。Cdc13-Stn1-Ten1 複合体は、RPA とテロメア一本鎖部位の結合において競合するため、Mec1 のリクルートを妨げる。また、Cdc13-Stn1-Ten1 複合体は、Exo1ヌクレアーゼがテロメアへ局在することを阻害する。

の機能を解析できる。テロメアの長さは、二本鎖部位の長さそのものなので、長いテロメアには多くの Rap1, Rif1, Rif2 が結合する。結合タンパク質の個数の影響は、TetO 配列のコピー数を変えることにより調べた。Rif1 および Rif2-TetR 融合タンパク質は、TetO 配列のコピー数に依存して、Tel1 の DNA 末端への局在を阻害したが、Mre11 の局在には影響しなかった。一方、Rap1-TetR 融合タンパク質は、Tel1 の局在および Mre11 の局在ともに影響を与えなかった。DNA 二本鎖切断末端への MRX の局在は Tel1 に依存しないが、Rap1 の結合するテロメア DNA 末端への MRX の局在は Tel1 に依存する可能性があったので、Rap1-TetR が *rif1/rif2/tel1* 三重破壊変異株で MRX の局在に影響を与えるかどうか調べた。興味深いことに、Rap1-TetR は *rif1/rif2/tel1* 三重破壊変異株において、Mre11 の DNA 末端の局在を阻害するという結果が得られた。以上の結果から、まず Rif1 と Rif2 が Tel1 と MRX の相互作用を阻害し、Tel1 が DNA 末端から除去されたら Rap1 がつぎに MRX の DNA 末端への結合を妨害するというモデルが示唆された。

では、このような機構における Rap1, Rif1 ならびに Rif2 それぞれの生化学的機能はどのようなものであろうか？ Tel1 は Xrs2 の C 末端に結合するが、Rif2 も同様の活性をもっていた。さらに、Rif2 と Tel1 は、Xrs2 の C 末端に競合的に結合することが示された。一方、Rif1 は、Rif2 とは異なり、Xrs2 を含め MRX に結合することはなかった。この結果は、Rif1 と Rif2 が異なる機序で、テロメア長を制御するという遺伝学的解析からの結果と一致した<sup>16)</sup>。

Mec1 も短いテロメアに集まることが予想されるが、詳細なことはわかっていない。どのようにして Mec1 が、テロメアに阻害されるかという実験結果から、以下のように推測している。テロメアの本鎖部位には、Cdc13 という一本鎖 DNA 結合タンパク質が結合している。この Cdc13 の結合は、Mec1 をリクルートする RPA の結合と拮抗する。我々は、22 bp の TG リピートがあれば DNA 末端はテロメアに改築されてしまうこと、また、22 bp の TG リピートからのテロメアの伸長は Mec1 と Tel1 の両方に依存することを見いだしている<sup>17)</sup>。短いテロメアでは、一本鎖 DNA 部位に Cdc13 のみならず RPA も結合することができるようになるのかもしれない。出芽酵母とは異なり分裂酵母では、ATR ホモログである Rad3 がテロメア長の制御において主要な役割をする。実際、分裂酵母では、正常なテロメアにおいても、RPA および Rad3 の結合がみられ

る<sup>18)</sup>。このことは、伸長させなければならぬ(短い)テロメアでは、RPAが結合しやすくなるというモデルを支持する。

高等動物でも、テロメアはチェックポイントの活性化を阻害する。その標的は、酵母と同様に、ATMとATRである。テロメアの本鎖鎖部位に結合するPOT1は、RPAと競合することにより、ATRをテロメアから排除する<sup>19)</sup>。一方、ATMの活性化は、TRF2により阻害されていることが示されているが、TRF2がATMのリクルートをどのような機構で阻害しているかは、明らかにされていない<sup>19)</sup>。一方、テロメアによって阻害されるATMとATRであるが、出芽酵母のMec1とTel1と同様にテロメアの維持に必要である。しかし、高等動物の体細胞では、テロメラーゼの発現がみられないので、その機構は、出芽酵母のように直接テロメラーゼを制御するのは別の機能が考えられている<sup>13)</sup>。

#### おわりに

本稿では、ATMとATRとのテロメアへの関与について述べた。テロメアが、細胞のもつ損傷応答機構を巧妙に利用して維持されている実態が、最近の研究で急速に明らかになってきたことを実感していただくと幸いである。しかし、まだまだ解明すべき問題が残されている。例えば本稿で述べたように、テロメアはDNA二本鎖切断の修復経路の一つである非相同末端結合を抑制しているが、非相同末端結合に必要なKuタンパク質は、テロメアの安定性に寄与していることがわかっている。このKuとテロメアの奇妙な関係については、残念ながら紙面の関係で触れなかったが、他の総説で紹介されている<sup>20)</sup>。多くの因子が関与するテロメア維持機構の全体像を理解するためには、さらなる研究の進展が望まれる。

- 1) Haber, J.E. (1998) *Cell*, 95, 583–586.
- 2) Zhu, Z., Chung, W.H., Shim, E.Y., Lee, S.E., & Ira, G. (2008) *Cell*, 134, 981–994.
- 3) Williams, R.S., Dodson, G.E., Limbo, O., Yamada, Y., Wil-

- liams, J.S., Guenther, G., Classen, S., Glover, J.N., Iwasaki, H., Russell, P., & Tainer, J.A. (2009) *Cell*, 139, 87–99.
- 4) de Lange, T. (2005) *Genes Dev.*, 19, 2100–2110.
- 5) Nakada, D., Matsumoto, K., & Sugimoto, K. (2003) *Genes Dev.*, 17, 1957–1962.
- 6) Falck, J., Coates, J., & Jackson, S.P. (2005) *Nature*, 434, 605–611.
- 7) Zou, L. & Elledge, S.J. (2003) *Science*, 300, 1542–1548.
- 8) Nakada, D., Hirano, Y., Tanaka, Y., & Sugimoto, K. (2005) *Mol. Biol. Cell*, 16, 5227–5235.
- 9) Smogorzewska, A. & de Lange, T. (2004) *Annu. Rev. Biochem.*, 73, 177–208.
- 10) Louis, E.J. & Vershinin, A.V. (2005) *Bioessays*, 27, 685–697.
- 11) Miyake, Y., Nakamura, M., Nabetani, A., Shimamura, S., Tamura, M., Yonehara, S., Saito, M., & Ishikawa, F. (2009) *Mol. Cell*, 36, 193–206.
- 12) Greenwell, P.W., Kronmal, S.L., Porter, S.E., Gassenhuber, J., Obermaier, B., & Petes, T.D. (1995) *Cell*, 82, 823–829.
- 13) McNees, C.J., Tejera, A.M., Martínez, P., Murga, M., Mulero, F., Fernandez-Capetillo, O., & Blasco, M.A. (2010) *J. Cell Biol.*, 188, 639–652.
- 14) Chang, M., Americ, M., & Lingner, J. (2007) *Genes Dev.*, 21, 2485–2494.
- 15) Hirano, Y., Fukunaga, K., & Sugimoto, K. (2009) *Mol. Cell*, 33, 312–322.
- 16) Wotton, D. & Shore, D. (1997) *Genes Dev.*, 11, 748–760.
- 17) Hirano, Y. & Sugimoto, K. (2007) *Mol. Biol. Cell*, 18, 2026–2036.
- 18) Moser, B.A., Subramanian, L., Chang, Y.T., Noguchi, C., Noguchi, E., & Nakamura, T.M. (2009) *EMBO J.*, 28, 810–820.
- 19) Denchi, E.L. & de Lange, T. (2007) *Nature*, 448, 1068–1071.
- 20) Riha, K., Heacock, M.L., & Shippen, D.E. (2006) *Annu. Rev. Genet.*, 40, 237–277.

杉本 勝則

(Department of Cell Biology and Molecular Medicine,  
University of Medicine and  
Dentistry of New Jersey (UMDNJ))

Telomere maintenance by DNA damage response machinery  
Katsunori Sugimoto (Department of Cell Biology and Molecular Medicine, University of Medicine and Dentistry of New Jersey (UMDNJ), 185 South Orange Ave., Newark, New Jersey 07103, USA)