

今後の展望

Rad9 のリン酸化フィードバック制御の分子構造基盤を解明することは今後の課題である。段階的なリン酸化を保証する分子構造基盤だけでなく、Rad9 のフィードバック制御は単一タンパク質内でおこる異なる部位のリン酸化により引き起こされている珍しい例である。個々のリン酸化がどの様に Rad9 の分子構造に作用するのか、また、その作用がどういう仕組みで DNA 損傷への脱着を制御しうるのかを理解することは重要である。これらの知見は他の分子生物学分野にも応用可能である。転写、翻訳など、核酸・タンパク質の相互作用が基盤となる経路では複数の複合体が順次作用する事で一つの高次な生命現象の実現を可能としている。Rad9 で見られる制御基盤と共通する部分は多いと予想しており、本研究の成果から普遍的な分子基盤が見出せると信じている。

Rad9 タンパク質だけがチェックポイント機構のフィードバック制御を担っている訳ではないと私達は考えている。前述したように (図2), DNA チェックポイント機構には Rad9 以外にも RPA と結合するセンサー・複合体, ATRIP-ATR がある。そのサブユニットである ATRIP タンパク質にも, Rad9 で見られるような RPA 結合モチーフが存在する。また, 興味深い事に ATRIP も DDK により段階的なリン酸化を受ける事を私達は見出している (古谷, 未発表)。ATRIP の段階的なリン酸化もフィードバック制御である可能性が高く, それぞれのチェックポイントタンパク質が持つフィードバック制御が協調して起こる事で, チェックポイントシグナルは厳密にオン・オフの制御を行っているのかも知れない。

終わりに

本研究は分裂酵母のタンパク質を用いた解析から私達が見出した知見である。分裂酵母は遺伝学の非常に容易なモデル生物である。様々なリン酸化部位置換変異遺伝子を構築し, それらを逐次, ゲノム上の野生型遺伝子と入れ替える事で解析が可能である。また, 培養が簡単であり, チェックポイント活性化だけでなく, DNA 損傷修復などの微妙な DNA 損傷応答活性の差も検出可能である。確かに高等生物にしかないチェックポイント因子は存在し, 私達もヒト遺伝子・培養細胞を用いた解析に着手している。その一方で少ない制御因子で成り立つ分裂酵母のチェックポイント制御は, 比較的詳しい部分まで分かっており, 普遍的な分子構造基盤を明らかにするには強力なモデルシ

ステムと言えると考えている。

- 1) Furuya, K., Poitelea, M., Guo, L., Caspari, T., & Carr, A.M. (2004) *Genes Dev.*, **18**, 1154-1164.
- 2) Furuya, K., Miyabe, I., Tsutsui, Y., Paderi, F., Kakusho, N., Masai, H., Niki, H., & Carr, A.M. (2010) *Molecular Cell*, **40**, 606-618.
Kai, M., Furuya, K., Paderi, F., Carr, A.M., & Wang, T.S. (2007) *Nat. Cell Biol.*, **9**, 691-697.
- 3) Bochkareva, E., Kaustov, L., Ayed, A., Yi, G.S., Lu, Y., Pineda-Lucena, A., Liao, J.C., Okorokov, A.L., Milner, J., & Arrowsmith, C.H., et al. (2005) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **102**, 15412-15417.
- 4) O'Driscoll, M., Ruiz-Perez, V.L., Woods, C.G., Jeggo, P.A., & Goodship, J.A. (2003) *Nature Genetics*, **33**, 497-501.
- 5) Zou, L. & Elledge, S.J. (2003) *Science*, **300**, 1542-1548.
- 6) Xu, X., Vaithiyalingam, S., Glick, G.G., Mordes, D.A., Chazin, W.J., & Cortez, D. (2008) *Mol. Cell Biol.*, **28**, 7345-7353.
- 7) Takeishi, Y., Ohashi, E., Ogawa, K., Masai, H., Obuse, C., & Tsurimoto, T. (2010) *Genes Cells*, **15**, 761-771.

古谷 寛治

(京都大学放射線生物研究センター
突然変異機構研究部門 細胞周期応答研究分野)

Phosphorylated Rad9 is released from damaged chromatin
Kanji Furuya (Division of Cell Cycle Response, Department of Mutagenesis, Radiation Biology Center, Kyoto University, Yoshida-Konoe-cho, Sakyo-ku, Kyoto 606-8501, Japan)

分子シャペロン HSP90 による複製ストレス応答機構の制御

1. はじめに

多細胞生物のゲノムは, 紫外線, 化学物質などの外的要因や, 細胞内代謝に伴う活性酸素, 副産物などの内的要因により, 常に損傷を受けている¹⁾。これらの損傷は複製 DNA ポリメラーゼによるゲノム複製の阻害, すなわち「複製ストレス」を引き起こす。細胞は複製ストレスに応答して, 様々な生化学経路を介して, 損傷の除去や複製の再開をおこなう。しかし, この応答機構がうまく働かないと, ゲノムに損傷や変異が蓄積し, 細胞死, 細胞老化, 細胞のがん化が誘導される。また, 複製ストレス応答機構は, がん細胞の抗がん剤耐性や悪性化にも関与することが強く示唆されている¹⁾。このような重要性にもかかわらず, 複製ストレス応答の分子機構は未だ不明な点が多く, 様々な生

化学経路がどのように制御されているのか、また、どのように協調して働いているのか解明すべき問題として残されている。

熱ショックタンパク質 HSP90 は、タンパク変性ストレスにより誘導される分子シャペロンとして同定された。しかし、HSP90 の細胞内含量は非ストレス環境下においても高く、その作用は、転写因子、ステロイドホルモン受容体、タンパク質リン酸化酵素など、細胞の増殖・生存に必要な因子の機能発現といった、多くの生物学的現象に重要であることが明らかになっている^{2,3)}。

近年、HSP90 が DNA 損傷修復や複製ストレスに関わるタンパク質の安定性、細胞内局在の制御を介し、細胞の抗がん剤感受性や突然変異の発生に重要な役割を果たしていることが明らかになりつつある。本稿に於いて、HSP90 がどのように複製ストレス応答の制御に関わっているか、具体例を挙げ概観したい。

2. 複製ストレス応答機構

複製ストレスは、細胞内外の様々な要因で生じる (図 1)。例えば、活性酸素は 8-オキシグアニンなどの塩基修

飾を引き起こす。種々の化学物質は同一鎖や対合する塩基対同士の架橋、あるいは塩基修飾を生じさせる。また、自発的な塩基の加水分解や脱アミノ化といった反応は常に発生している。これらの損傷は、DNA 合成期までに修復されなければ、複製 DNA ポリメラーゼの進行を阻害する (図 1)。複製ストレスが持続している DNA 部位は不安定で、DNA 二重鎖切断が生じやすく、この損傷が修復不可能になると細胞死プログラムが働くと考えられている。そのため、細胞は複製ストレス応答系と呼ばれる様々な分子機構を活性化させ、このような状況におちいることを防いでいる (図 1)^{1,4)}。複製ストレスが生じると、まず、チェックポイント機構が働き、細胞周期を停止させる。次に、損傷の修復や複製の再開をおこなうために、後述するファンコニ貧血 (Fanconi anemia : FA) 経路、特殊な DNA ポリメラーゼを用いて強行的に複製を進める損傷乗越え DNA 合成 (Translesion DNA synthesis : TLS)、相同組換え修復 (Homologous recombination repair : HR)、そして、ヌクレオチド除去修復 (Nucleotide excision repair : NER) などが働く (図 1)。これらの生化学経路は協調的に働くと考えられているが、その詳細な分子機構は不明である。我々

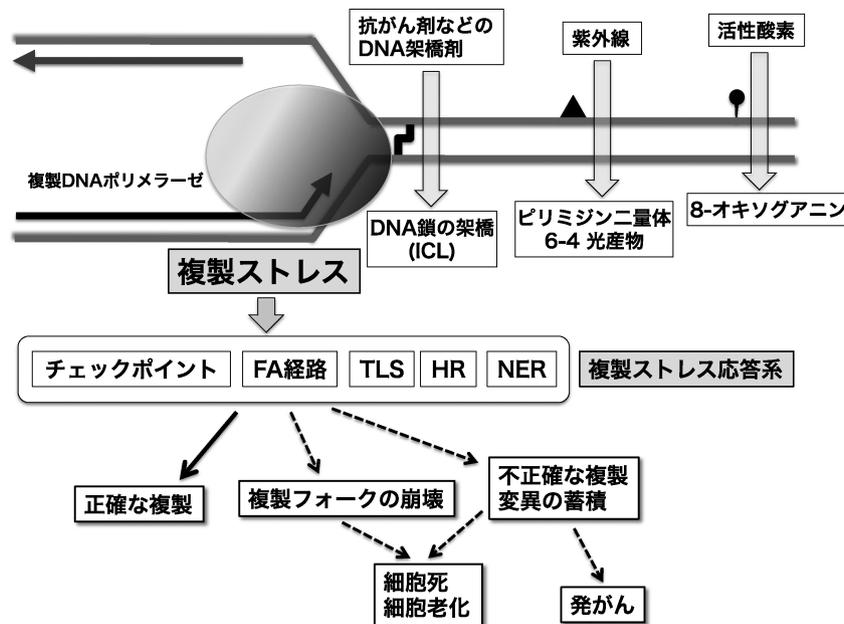


図 1 複製ストレス応答
DNA 鎖上に生じた損傷は複製 DNA ポリメラーゼの進行を阻害し、「複製ストレス」が生じる。すると、チェックポイントが働き細胞周期が停止する。また、FA 経路、TLS、HR、NER などが協調して働き、複製が再開する。この過程がうまく働かなければ、細胞死、細胞老化、細胞のがん化が生じる (破線)。

は、HSP90がFA経路とTLSの二つの機構における鍵分子を調節することにより、両者を制御することを見いだした⁵⁻⁷⁾。

3. 分子シャペロン HSP90

翻訳されたタンパク質は不安定なエネルギー状態にあり、フォールディングの過程を経て安定化する。分子シャペロンはこのようなタンパク質(クライアント)に結合し、そのフォールディングを助ける。また、種々の変性したタンパク質に作用し、生理機能活性を持つフォールディングへの回帰を手助けする^{2,3)}。HSP90は α と β の二つのアイソフォームが存在し、ホモ二量体で働く。熱ショックタンパク質の一種であるHSP70は疎水性アミノ酸領域に結合するため、合成されたタンパク質や変性したタンパク質の多くをクライアントにするのに対し、HSP90はステロイドホルモンレセプター、タンパク質リン酸化酵素(例 AKT1, RAF)、転写因子(例 p53)などの細胞増殖、生存に必要な特定のタンパク質をクライアントとしている^{2,3)}。

HSP90のシャペロン活性はATPの結合と分解に共役する構造変化に依存する。N末端領域にあるATP結合部位にATPが結合すると、N末端どうしが結合しHSP90は活性化される。アンサマイシン系抗生物質であるHSP90特異的阻害剤 Geldanamycin (ゲルダナマイシン) やその誘導体の 17-(Allylamino)-17-demethoxy-geldanamycin (17-AAG) はHSP90のATP結合部位に競合的に結合してその活性を阻害する^{2,3)}。

HSP90を含む熱ショックタンパク質の発現量および活性はがん細胞で高く、また、がん細胞のHSP90がゲルダナマイシンに強い親和性を持つことが報告されている⁸⁾。このような理由から、ゲルダナマイシン誘導体は、HSP90を標的分子とする抗がん剤として臨床試験が進められている²⁾。しかし、なぜ、がん細胞においてHSP90の発現、活性が高くなるのか現在のところ十分解明されていない。可能性としては、HSP90の発現・活性が高いがん細胞が、生体内における生存・増殖に有利であり選択されてきたことが考えられる。

4. HSP90によるFA経路の制御

ファンコニ貧血(FA)は、臨床的には先天性骨髄不全症候群、骨格異常、高発がん性(白血病、扁平上皮がんなど)を特徴とする^{4,9)}。抗がん剤であるマイトマイシンCやシスプラチンは、二本鎖DNA間を共有結合でつなぐ架橋(interstrand crosslink; ICL)を形成する。FA患者由来

の細胞(FA細胞)は、これらのDNA架橋剤に感受性が高いことが知られている^{4,9)}。例えば、正常細胞ではほとんど影響がでない低濃度のDNA架橋剤でFA細胞を処理すると、分裂中期において特徴的な染色体断裂像が高頻度に見られ、細胞死が亢進する。FA原因遺伝子は現在15個が同定され、これらの遺伝子産物はFA経路と呼ばれるICL修復に重要な生化学経路を構成している^{4,9)}。FA経路の活性化には、FANCA, B, C, E, F, G, Lと複数のFanconi anemia-associated protein (FAAP)からなる核内FAコア複合体の形成が重要である(図2)。このFAコア複合体はユビキチンE3リガーゼ複合体で、触媒サブユニットであるFANCLがFANCD2, Iをモノユビキチン化する(図2)^{4,9)}。また、FANCD2, Iは損傷依存的にチェックポイントキナーゼであるATRやATMによりリン酸化される(図2)¹⁰⁾。FANCD2とFANCIは複合体(ID複合体)を形成しており、上記の修飾を受けたID複合体は、クロマチンに結合し、ICL修復に必要な種々のDNA結合タンパク、DNAヌクレアーゼやDNAポリメラーゼを損傷部位へ集積させ、TLSやHRを介した機構で複製を再開すると考えられている。このとき、ID複合体は、核内フォーカスとして観察され、FA経路の活性化を反映していると思われる。これまで、ICLを引き起こす内因性因子は不明であった。しかし、最近、内因性アセトアルデヒドの毒性に拮抗するためにFA経路が必要であることが報告された¹¹⁾。したがって、この代謝産物が内因性のICL誘導物質である可能性があり、アルコールによる発がん、胎児奇形の誘発とFA経路との関係が注目されている。

FANCAは、FA患者の約60%で遺伝子変異が認められ、細胞質と核の間をシャトルする核タンパク質である⁹⁾(図2)。FA複合体の形成、すなわちFA経路の活性化にはFANCAの核内濃度の増加が重要であるが、その制御機構は明らかではなかった。この分子機構を知るために我々はFANCAの結合タンパクをプロテオミクスで網羅的に同定し、その中にHSP90を見いだした⁵⁾。HSP90はクライアントの細胞内局在、安定性を制御することが知られているので、HSP90がFANCAの核内濃度を制御するか否か解析してみた。まず、17-AAGやHSP90 RNAiでHSP90の機能を阻害すると、FANCAのポリユビキチン/プロテアソーム系による分解が亢進した。また、FANCAの細胞質から核への移行が著しく阻害された。さらに、FANCD2の活性化阻害、DNA架橋剤に対する感受性の亢進と染色体断裂の増加がみられることから、FA経路が抑制されていることが明らかになった⁵⁾。以上の結果は、HSP90が

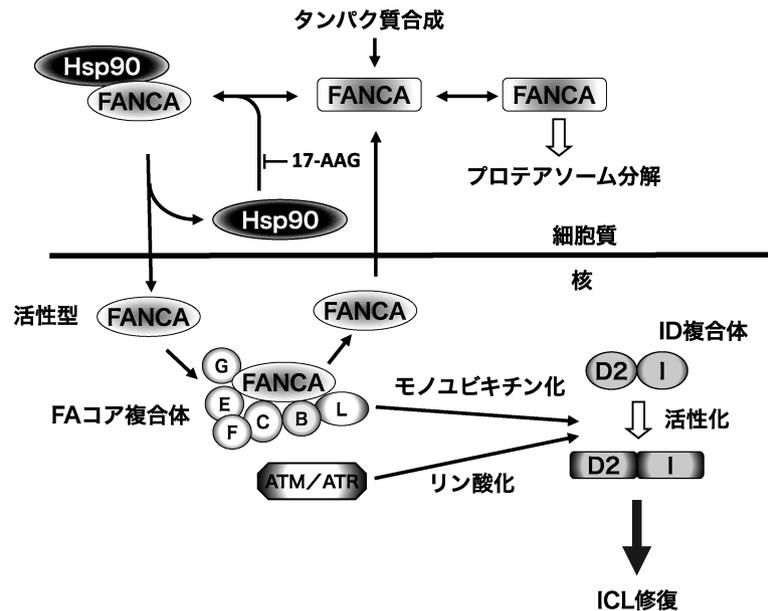


図2 HSP90によるFA経路の制御モデル

FA経路の活性化には、核内FANCAを含むFAコア複合体に依存するID複合体のモノユビキチン化が必須である。HSP90は細胞質におけるFANCAの安定化と核移行を促進する。17-AAGなどによりHSP90を阻害すると、FANCAはプロテアソームによる分解と核移行が阻害され、FA経路が抑制される。

FANCAを介して、FA経路の活性化を制御することを示唆する(図2)。今回、我々の見いだした知見は、HSP90阻害剤でがん細胞のFA経路を不活性化させ、マイトマイシンCやシスプラチンなどのICLを引き起こす抗がん剤に対する感受性を高めるといふ、あらたな抗がん治療法の開発につながる可能性がある。

5. HSP90によるTLSの制御

紫外線は、同一鎖に隣接するピリミジン残基間に共有結合を生じさせ、シクロブタン型ピリミジン二量体や6-4光産物と呼ばれるDNA損傷を引き起こす(図1)¹²⁾。これらの損傷はDNA鎖に歪みを生じさせる。NERは、この歪みを認識し、損傷を含む約30ヌクレオチドを除去して新たなDNA鎖を合成する分子機構である。皮膚の過敏症、皮膚がんの高発を特徴とする色素性乾皮症の多くは、このNERに参与する遺伝子の両アレルの変異が原因である。6-4光産物によるDNA鎖の歪みは大きく、この損傷はNERで速やかに修復される。一方、シクロブタン型ピリミジン二量体は歪みが小さく、修復に時間がかかることが知られている。もしこのようなDNA損傷がDNA合成期まで残存していると、複製DNAポリメラーゼの進行が

阻害され、複製ストレスが生じる。すると、細胞は特殊なDNAポリメラーゼ(TLSポリメラーゼ)を用いて複製ストレスを回避する¹²⁾。すなわち、TLSポリメラーゼは、複製DNAポリメラーゼと異なり、複製の忠実度が低いため、正確な対合でなくてもヌクレオチドを入れて複製を進めることができる。しかし、この機構では、損傷部位の相補鎖に誤った塩基が挿入されやすく、その結果ゲノム上に変異が導入される可能性が非常に高くなる(Error Prone TLS)¹²⁾。したがって、後述するように、通常のDNA複製ではTLSポリメラーゼが働かないよう制御されている。TLSポリメラーゼの中で中心的な働きをするものはYファミリーポリメラーゼのPol η , ι , κ , REV1とBファミリーポリメラーゼのPol ζ である。一般に、TLSポリメラーゼは誤りを起こしやすいが、Pol η は、シクロブタン型ピリミジン二量体の損傷に対しては、相補鎖に正しいヌクレオチドを入れて複製をおこなうことができる(Error Free TLS)¹²⁾。上述したように、シクロブタン型ピリミジン二量体はDNA合成期まで残存する可能性が高い損傷なので、Pol η の欠損細胞は、この損傷部位を正確に複製することができず、代わりに他のTLSポリメラーゼが働くので紫外線誘発性の突然変異を蓄積しやすいと考えられ

る。事実、Pol η は、NER 遺伝子に異常のない色素性乾皮症バリエーション群の原因遺伝子として同定されている¹³⁾。

Y-ファミリーポリメラーゼによる TLS の活性化には、複製装置の一部である PCNA の K164 にユビキチンが結合したモノユビキチン化 PCNA (Ub-PCNA) が重要である¹²⁾。紫外線などによる複製ストレスで Ub-PCNA が生じると (図 3)、PCNA への結合ドメインとユビキチンに対する結合ドメインを持つ Y-ファミリーポリメラーゼが、Ub-PCNA に強い親和性で結合し、複製 DNA ポリメラーゼに置き換わり、TLS が開始する (図 3)。このとき、Y-ファミリーポリメラーゼは、損傷部位への動員を反映する核内フォーカスとして観察される。最後に PCNA が脱ユビキチン化され、複製 DNA ポリメラーゼが Y-ファミリーポリメラーゼと置き換わり、忠実度の高い複製がおこなわれる。

これまで高等真核生物において、Y-ファミリーポリメラーゼの活性制御の分子機構は十分明らかでなかった。我々は、HSP90 のクライアントとなる複製ストレス応答タンパク質を探索し、Pol η を同定した。さらに、HSP90 が Pol η のフォールディングを調節することにより TLS を制御することを明らかにした⁶⁾。まず、Pol η の安定性や

細胞内局在における HSP90 の役割を調べるため、17-AAG 処理や siRNA で HSP90 の発現や機能を抑制すると、いずれの場合も Pol η の核内フォーカス形成が著しく阻害された。このとき、Ub-PCNA の発現量とその核内フォーカス形成は影響を受けなかった。したがって、Pol η の核内フォーカス形成抑制、すなわち損傷部位への動員の抑制は Pol η の量的、質的变化による可能性が考えられた。実際、HeLa 細胞などでは、HSP90 阻害でユビキチン/プロテアソームによる Pol η の分解が亢進し、これが核内フォーカス形成の抑制の主な原因であることが分かった。一方、HEK293 細胞、MCF7 細胞などは、Pol η の発現量は低下しないにもかかわらず、核内フォーカス形成が抑制された。この結果は、HSP90 の機能抑制により、Pol η の正しいフォールディングが損なわれ、Ub-PCNA との結合が抑制されていることを示唆した。それを証明するために、*in vivo*、*in vitro* で解析したところ、HSP90 阻害が、Pol η と Ub-PCNA との結合を著しく阻害することが分かった⁶⁾。

次に、HSP90 が、Pol η を介する TLS に与える影響を解析した。まず、紫外線感受性を測定したところ、17-AAG は、Pol η の RNAi による発現抑制と同様に紫外線感受性を亢進させた。すなわち、この結果は、HSP90 阻害が紫

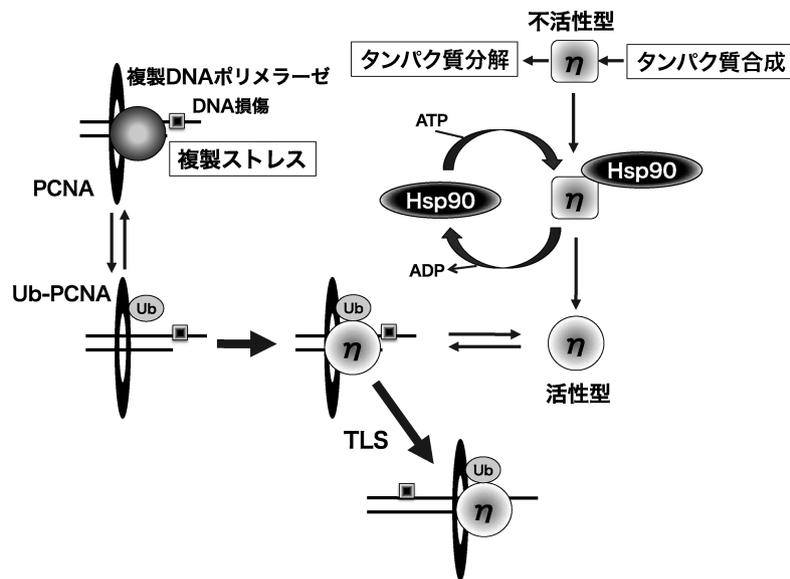


図 3 HSP90 による Pol η の制御モデル

紫外線などによる DNA 損傷で複製ストレスが生じると PCNA がモノユビキチン化される。するとこれに強い親和性を持つ Pol η が複製 DNA ポリメラーゼと置き換わり TLS が起こる。HSP90 は、Pol η のフォールディングを制御し、Ub-PCNA に結合できる活性型の変換を促進する。HSP90 阻害時、細胞タイプによっては不活性型 Pol η はプロテアソームで分解され、タンパク質レベルが低下する。

外線で生じたDNA損傷に対する効率的なTLSを抑制して細胞死を増強することを示唆する。また、17-AAGとRNAiの併用は相加的な効果がほとんど見られなかったことから、17-AAGによる紫外線感受性の大部分はPol η の機能喪失によるものと考えられた⁶⁾。

Pol η 欠損細胞では、他のTLSポリメラーゼが、紫外線で生じたDNA損傷部位でError prone TLSをおこない、その結果、紫外線誘発性突然変異が増加すると考えられている。そこで、HSP90抑制が紫外線誘発性突然変異に与える影響を*supF*突然変異測定法で調べた¹⁴⁾。この測定法の基本原理は、*LacZ*にアンバー変異を持つ大腸菌に*supF*導入をおこない、*LacZ*発現をレスキューする実験である。紫外線照射した*supF*シャトルベクターを培養細胞に導入し、NERあるいはError free TLSによる複製で生じた野生型*supF*とError prone TLSによる複製で生じた変異型*supF*の割合を上記の大腸菌を用いて調べ、変異率を算出する方法である。17-AAG処理は、Pol η RNAiと同様に突然変異率を高めた。また、両者を併用しても相加的な効果は見られなかった⁶⁾。

最近、我々はHSP90がREV1も制御することを見いだした⁷⁾。HSP90はREV1に特異的に結合し、17-AAGやHSP90 RNAiは、紫外線照射によるREV1の核内フォーカス形成を抑制した。この抑制は、Pol η の場合と同じく、細胞タイプ依存的にみられるポリユビキチン/プロテアーゼ分解の亢進やUb-PCNAとの結合抑制によるものであった。REV1はError prone TLSでゲノムへの突然変異の導入を促進することが知られている。そこで、上記*SupF*測定法を用いてHSP90抑制の効果を調べたところ、REV1による紫外線誘発性の突然変異率が低下することが示唆された⁷⁾。

以上の結果より、Y-ファミリーポリメラーゼPol η 、REV1を介したTLSの活性化にHSP90が必要であることが明らかになった。

6. おわりに

一般にHSP90を含む熱ショックタンパク質は、細胞内外のさまざまなストレスから細胞を守っており、これらのタンパク質の機能が亢進している細胞は環境変化に強いと考えられている^{2,3)}。HSP90は、正常細胞では内的要因で生じた複製ストレスの影響を低減させ、正常なゲノム複製をおこなうために必要である。しかし、がん細胞ではHSP90による複製ストレス応答の過剰な活性化は、がん治療において問題となる。例えば、FA経路の活性化によ

り、DNA架橋剤系の抗がん剤に対して抵抗性を示す可能性がある。また、アルキル化剤やヌクレオチドアナログによって複製ストレスを誘発する際、TLSによる複製の再開がおこりDNA損傷に対する耐性を高める結果、治療抵抗性となることが考えられる。さらに、Pol η 、REV1によるError prone TLSにより、がん細胞ゲノムに変異が蓄積され、より悪性形質を獲得する可能性がある。その理由として、Pol η は、紫外線で生じるシクロブタン型ピリミジン二量体に対してはError free TLSをおこなうが、他のDNA損傷ではREV1と同じくError prone TLSをおこなうと考えられるからである。HSP90は、FANCAやY-ファミリーポリメラーゼの他にもチェックポイントや修復に関わるタンパク質をクライアントとしている。したがって、HSP90阻害剤はDNA損傷応答系を抑制し、がん細胞の放射線、抗がん剤の感受性を高める可能性がある^{9,15)}。上記の治療法の開発には、がん細胞におけるHSP90活性化機構の解明、およびがん細胞特異的なHSP90の抑制法が今後の重要課題となる。

謝辞

この研究は、群馬大学・生体調節研究所・山下孝之教授の研究室でおこなわれたものです。研究室の関本隆志先生、Franklin Mayca Pozo博士（現神戸大学）、および花岡文雄先生（学習院大学）、益谷央豪先生（名古屋大学）をはじめとする多くの共同研究者の方々、協力していただいた方々に、この場を借りて深く御礼申し上げます。

- 1) Jackson, S.P. & Bartek, J. (2009) *Nature*, 461, 1071–1078.
- 2) Trepel, J., Mollapour, M., Giaccone, G., & Neckers, L. (2010) *Nat. Rev. Cancer*, 10, 537–549.
- 3) Whitesell, L. & Lindquist, S.L. (2005) *Nat. Rev. Cancer*, 5, 761–772.
- 4) Deans, A.J. & West, S.C. (2011) *Nat. Rev. Cancer*, 11, 467–480.
- 5) Oda, T., Hayano, T., Miyaso, H., Takahashi, N., & Yamashita, T. (2007) *Blood*, 109, 5016–5026.
- 6) Sekimoto, T., Oda, T., Pozo, F.M., Murakumo, Y., Masutani, C., Hanaoka, F., & Yamashita, T. (2010) *Mol. Cell*, 37, 79–89.
- 7) Pozo, F.M., Oda, T., Sekimoto, T., Murakumo, Y., Masutani, C., Hanaoka, F., & Yamashita, T. (2011) *Mol. Cell. Biol.*, 31, 3396–3409.
- 8) Kamal, A., Thao, L., Sensintaffar, J., Zhang, L., Boehm, M.F., Fritz, L.C., & Burrows, F.J. (2003) *Nature*, 425, 407–410.
- 9) Yamashita, T., Oda, T., & Sekimoto, T. (2007) *Cell Cycle*, 6, 2232–2235.
- 10) Ishiai, M., Kitao, H., Smogorzewska, A., Tomida, J., Kinoshita, A., Uchida, E., Saberi, A., Kinoshita, E., Kinoshita-

- Kikuta, E., Koike, T., Tashiro, S., Elledge, S.J., & Takata, M. (2008) *Nat. Struct. Mol. Biol.*, 15, 1138–1146.
- 11) Langevin, F., Crossan, G.P., Rosado, I.V., Arends, M.J., & Patel, K.J. (2011) *Nature*, 475, 53–58.
- 12) Waters, L.S., Minesinger, B.K., Wiltout, M.E., D'souza, S., Woodruff, R.V., & Walker, G.C. (2009) *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 73, 134–154.
- 13) Masutani, C., Kusumoto, R., Yamada, A., Dohmae, N., Yokoi, M., Yuasa, M., Araki, M., Iwai, S., Takio, K., & Hanaoka, F. (1999) *Nature*, 399, 700–704.
- 14) Parris, C.N. & Seidman, M.M. (1992) *Gene*, 117, 1–5.
- 15) Powell, S.N. & Kachnic, L.A. (2011) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 108, 9731–9732.

小田 司

(群馬大学生体調節研究所遺伝子情報分野)

Regulation of the DNA-replication stress-response pathways by heat shock protein 90 (HSP90)

Tsukasa Oda (Laboratory of Molecular Genetics, Institute for Molecular and Cellular Regulation, Gunma University, 3-39-15 Showa-machi, Maebashi, Gunma 371-8512, Japan)

スプライソソームのスプライシング以外の機能

1. はじめに

真核生物において、DNAから転写されたばかりの mRNA は未成熟の状態であり、このような未成熟 mRNA (precursor mRNA : pre-mRNA) は、5'末端のキャッピング、3'末端のポリ A 化、スプライシングによるイントロンの除去などの転写後修飾を受け成熟型となり、細胞質へと輸送され、翻訳の鋳型となる¹⁻³⁾。現在までに、転写や転写後修飾機構に関しては数多くの研究がなされており、それぞれの機構の詳細な分子メカニズムも解明されてきた。さらに、近年、転写と転写後修飾が共役することで転写後修飾が効率的に行なわれるという事実が明らかとなり、現在では、mRNA の転写を行なう RNA ポリメラーゼ II に様々な転写後修飾因子が結合し、転写後修飾が協調的に行なわれる mRNA ファクトリーという概念が一般化している⁴⁾(図 1)。加えて、最近の研究から、転写が転写後修飾に与える影響だけでなく、転写後修飾因子同士が正確な遺伝子発現を行なうために協調していることも明らかになってきた。本稿では、そのような例としてスプライシング関連因子が、スプライシング以外の機能として 3'末端

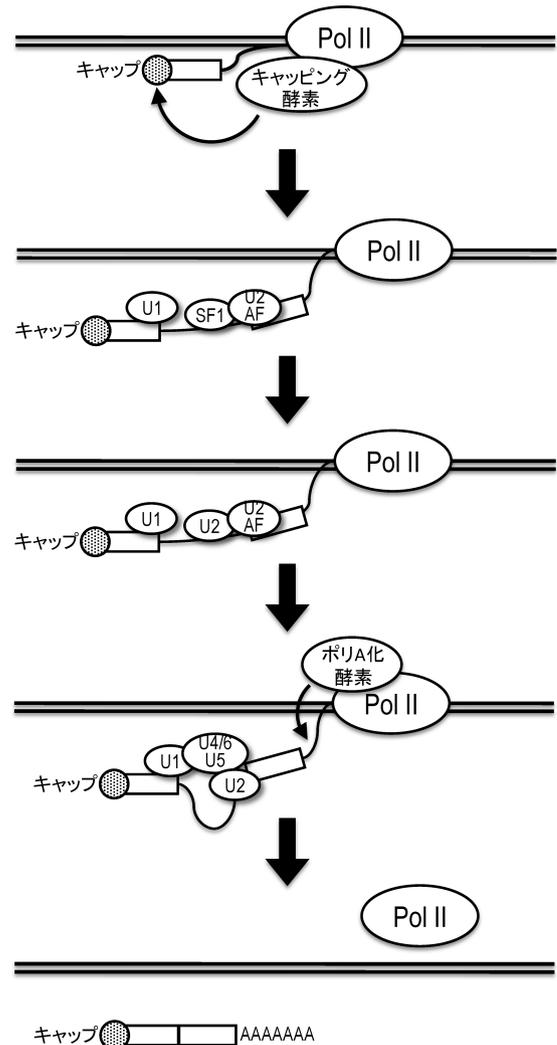


図 1 mRNA の転写後修飾

転写された mRNA は、5'末端のキャッピング、スプライシングによるイントロンの除去、3'末端のポリ A 化を受け成熟型となり、核外輸送される。長方形はエクソン、実線はイントロン、二重線は DNA を表す。

のプロセッシングや mRNA の核外輸送をも制御しているという最近の報告に焦点を当て、その分子メカニズムなどを概説したい。

2. mRNA 転写後修飾

転写されたばかりの pre-mRNA は、遺伝情報を持つエクソンと、遺伝情報を持たないイントロンが交互に並んだ構造をしており、正確な遺伝子発現のためにはスプライシングによってイントロンが取り除かれ、エクソン同士が繋ぎあわさる必要がある。スプライシング反応の中心的な役