

ゲノム維持に関わるユビキチンリガーゼ CRL4-Cdt2 の DNA 合成部位集積機構

～将来の新しいがん治療へつながる研究～

理学研究科 生命科学専攻

◎M1 ^{べっき たつや} 戸次龍哉、助教 ^{はやし あきよ} 林晃世、教授 ^{にしたに ひでお} 西谷秀男

キーワード

細胞周期, DNA 複製, ゲノム, タンパク質分解, ライブイメージング, 細胞生物学



研究概要

細胞周期は DNA 複製準備期である G1 期、DNA が複製される S 期、細胞分裂準備期である G2 期、細胞分裂が起こる M 期からなり、一回の細胞周期で一度だけ DNA が複製されるように制御されている。そのため、DNA 複製開始因子あるいは制御因子 (Cdt1, Set8, p21 など) は、S 期では、正常な DNA 複製を妨げるため分解される必要がある。これらの因子を標的として分解へと導くのが「ユビキチンリガーゼ CRL4-Cdt2」である。細胞が S 期に入ると CRL4-Cdt2 は、DNA 合成部位で PCNA に集積・結合して、標的タンパク質 (基質) を認識し、ポリユビキチン化し、分解へと導く。PCNA は DNA 合成部位に結合し諸因子の足場として働く。この分解により DNA 複製が正常に進行する。Cdt2 は CRL4-Cdt2 複合体の基質認識サブユニットで、その発現を抑制すると過剰な複製をもたらすので、ゲノムの維持に必須の因子である。この Cdt2 は、基質認識だけでなく、機能部位集積や活性制御など多彩な役割を担うとされるが、その詳細な作用メカニズムはわかっていない。本研究では、Cdt2 の 3 種の機能モチーフ (DNA 結合ドメイン、PCNA 結合モチーフ、リン酸化) の変異体を作製し、ライブイメージングによって DNA 合成部位への集積強度と離散のタイミングについて調べた。その結果、Cdt2 は S 期開始後速やかに PCNA へ集積し、S 期後期には PCNA から離れるが、DNA 結合ドメインと PCNA 結合モチーフに変異を加えると集積しなくなった。一方で、リン酸化部位に変異を加えると、Cdt2 は過剰に DNA 合成部位に集積し続け、S 期の進行が遅れた。Cdt2 が S 期初期に DNA 合成部位へ集積することは素早い基質分解のため必須だが、S 期後期にリン酸化によって DNA 合成部位から外れることも正常な細胞周期の進行に重要だと考える。

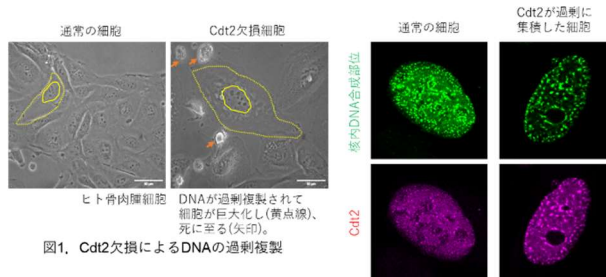


図1. Cdt2欠損によるDNAの過剰複製

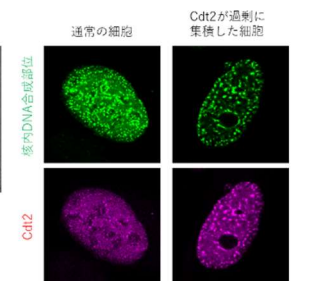


図2. Cdt2のリン酸化阻害によるCdt2の過剰集積

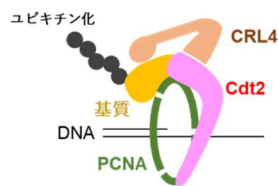


図3. DNA合成部位へのCRL4-Cdt2集積モデル

アピールポイント

一回の細胞周期に一度のみの複製が、ゲノムの維持・継承に重要である。Pevonedistat により CRL4-Cdt2 の活性を阻害すると、細胞は過剰な DNA 複製を継続し続け、死に至る。また、Cdt2 が DNA 合成部位に留まり続けても DNA 複製の遅延をもたらすことが明らかになった。CRL4-Cdt2 の DNA 合成部位への集積がタイミングよく制御されることは細胞周期が正常に進行するために不可欠である。本研究ではそのために重要なモチーフを特定した。一部のがん細胞は Cdt2 を高発現している。Cdt2 を特異的に阻害する試薬はより有望な抗がん剤になる可能性がある。さらに、集積や基質認識、活性に必要な Cdt2 の補因子 (PCNA、リン酸化酵素) の阻害薬の併用により、より特異的で効果的ながん細胞増殖阻害が期待できる。本研究は、将来の新しいがん治療法の確立につながる基礎的な研究といえるだろう。

