

## 「AID-C 末端による DNA シナプス形成」について

(論文内容の要旨)

京都大学大学院医学研究科、本庶 佑 (ほんじょ たすく) 客員教授、SOMAYEH SABOURI 大学院生、小林 牧 (こばやし まき) 特定准教授の研究グループは、免疫グロブリンの組換えと体細胞変異に必須の分子 AID が、その C 末端部分により DNA のシナプスを形成する機構を明らかにしました。この研究成果は、米国科学アカデミー紀要 (Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America) で発表されることになりました。

### 背景と目的

Activation-induced cytidine deaminase (AID) は、DNA の一本鎖を切断 (single strand break, SSB) することにより、免疫グロブリン (Ig) 遺伝子のクラススイッチ組換え (Class Switch Recombination, CSR)、ジーンコンバージョンおよび体細胞突然変異 (Somatic Hypermutation, SHM) を開始する。

CSR の過程では、AID がドナー及びアクセプターとなる各々のスイッチ(S)領域に SSB を形成し、DNA 損傷修復機構がほとんど突出配列の無い二本鎖切断(double strand break, DSB)に処理する。その結果生じた DSB 断片は、互いに引き寄せられ(synapse 形成)、結合される。AID-C 末端の変異体細胞では、SSB と SHM を起こす効率は、野生型細胞と同程度であるが、CSR の効率が著しく低下する。これは、AID-C 末端部分が SSB 後の DSB 形成に必要である可能性を示している。この仮説を検証するために、修復結合と synapse 形成における AID-C 末端部分の機能を検討した。

### 方法と結果

まず、AID-C 末端変異体による CSR の効率は非常に低いが、その CSR により構成された結合部の配列を解析したところ、結合部に 0-3 塩基対の短い相同配列を持つクローンが減少し、逆に 4 塩基対以上の相同配列を持つものが増加し、古典的非相同性結合(classical non-homologous end joining, C-NHEJ)が損なわれ、代償的に Alternative end joining が働くことが示唆された。そこで、クロマチン免疫沈降法を用い、C-NHEJ に関わる分子の S 領域への集積を解析したところ、AID-C 末端変異体細胞では Ku80 や XRCC4 などの C-NHEJ に関わる分子の S 領域への集積が、野生型細胞と比べ低下していた。一方、SSB に特異的に結合する PARP1 の集積は野生型よりも高かったため、AID-C 末端変異体では SSB から DSB へと処理する過程が障害されていると考えられた。さらに、synapse 形成に重要な 53BP1, DNA PKcs や UNG などの S 領域への集積も減少し、DSB 形成の不良により synapse 形成が低下している可能性が考えられた。実際に、100 万塩基対離れた染色体領域同士の相互作用を検出する Chromosome Conformation Capture (3C) 法では、AID-C 末端変異体細胞でのドナー・アクセプター間の synapse 形成低下が示された。次に、DT40 細胞を用い、AID による SSB を起点とするジーンコンバージョン (Gene Conversion, GC) と呼ばれる相同組換え過程について検討した。この細胞では、Ig 遺伝子可変 (V) 領域において、上流の偽 V 領域との間で GC を起こす。興味深いことに、AID-C 末端変異体は GC の効率も野生型と比較し低下していた。これは SSB より DSB の方が GC に有利なためと推測され、AID-C 末端変異体の SSB から DSB 形成への処理効率の低下を反映する結果と考えられた。

#### 本研究の意義

以上の結果を総合すると、AID-C 末端部分は CSR と GC の双方にお

いて、DNA の SSB からの DSB の形成と synapse 形成に必要なである事が示唆された。本研究では、AID が一本鎖 DNA 切断に加え、その C 末端部分を介し、一本鎖切断に続く二本鎖切断端の形成と synapse 形成において必須の機能を担うことが明らかとなった。

本成果は、以下の研究費によって得られた。

文部科学省・科学研究費補助金 基盤研究 (C) 22570169

研究代表者 小林 牧

研究期間 \_2010 年 4 月～2013 年 3 月 \_

基盤研究 (C) 25440007

研究代表者 小林 牧

研究期間 \_2013 年 4 月～現在

特別推進研究17002015

研究代表者 本庶佑

研究期間 2010年～2014年

基盤研究C 24590352

研究代表者 Nasim A. Begum

研究期間 2012年～2014年