

DNA 二重鎖切断の修復過程において R-loop 構造を保護する機構の解明

The mechanism protecting R-loops during DNA double-strand break repair

東京大学 安原 崇哲

DNA 損傷は日々我々のゲノムを脅かしており、損傷の中でも特に DNA 二重鎖切断 (DSB) は重篤なゲノム異常を誘導するため、正確に修復する必要がある。ヒト細胞において DSB は、主に非相同末端結合と相同組換え修復機構の 2 つで修復されるが、それらの間の経路選択は長年の議論の的となっている。経路選択は周辺クロマチンの状況に依存すると考えられてきたが、近年では、RNA が相同組換え修復を推進することなどが明らかとなり¹、二重鎖切断周辺の RNA 転写の活性化度合いが経路選択に影響する可能性が議論されてきた²。実際、DSB 周辺に RNA と DNA のハイブリッド二重鎖構造ができること、さらにはそれらが DSB 修復機構に影響を与えることが明らかになりつつある^{3,5}。我々のグループは、RNA 転写活性化領域において DSB が発生した際に、R-loop 構造、すなわち DNA/RNA ハイブリッド二重鎖と、一重鎖 DNA からなる構造の蓄積と、その解消が起こることを発見した⁶。さらにこの R-loop 構造の処理を起点として転写共役型相同組換え修復という未だ知られていなかった修復経路が誘導されることを明らかにした。これらの修復経路が機能しない場合には重篤なゲノム異常が発生することも判明した。

一般に、R-loop 構造の一重鎖 DNA 領域はヌクレアーゼによる切断の標的となることから、R-loop 構造はゲノム不安定性の原因となると考えられている⁷。しかしながら、この度我々の発見した転写共役型相同組換え修復においては、R-loop 構造の一重鎖 DNA 領域は何らかの機構によってヌクレアーゼによる切断から保護されていることが示唆された。それらがどのような分子メカニズムによって保護されているのかを解明し、DSB 修復中に R-loop 構造がさらなるゲノム不安定性の原因となることを防ぐメカニズムを解明することは、がんなどに頻繁に見られるようなゲノム異常がどのように発生するかについての、根源的なメカニズムの解明につながると考えられた。

今回の研究で、転写共役型 DNA 修復メカニズムに関わる新たな因子 RAP80 を同定し、RAP80 が R-loop 構造の保護、および転写共役型末端結合の誘導において重要な役割を果たしていることが明らかとなった。RAP80 を欠損すると、R-loop 構造のうち一重鎖 DNA 部位が過剰に蓄積した CtIP によって不安定化し、逆に一重鎖 DNA を失った R-loop 構造の DNA-RNA ハイブリッドは、正常な解消のメカニズムが機能せず、DNA-RNA ハイブリッドは蓄積してしまうと考えられた。これらの R-loop 構造の制御異常は、転写共役型末端結合によって守られるべき領域において DSB 誘導後の欠失サイズや、遺伝子融合頻度を増加させると考えられることから、RAP80 を介した R-loop 構造の制御は、先に解明した転写共役型相同組換え修復と並んで、我々のゲノムの最も重要な部位の遺伝子情報を守っているメカニズムであると考えられた⁸。

【参考文献】

- 1 Keskin, H. *et al. Nature* **515**, 436-439 (2014).
- 2 Marnef, A. *et al. J. Mol. Biol.* **429**, 1277-1288 (2017).
- 3 Ohle, C. *et al. Cell* **167**, 1001-1013 e1007 (2016).
- 4 Cohen, S. *et al. Nat. Commun.* **9**, 533 (2018).
- 5 Lu, W.-T. *et al. Nat. Commun.* **9**, 532 (2018).
- 6 Yasuhara, T. *et al. Cell* **175**, 558-570 (2018).
- 7 Aguilera, A. *et al. Mol. Cell* **46**, 115-124 (2012).
- 8 Yasuhara, T. *et al. bioRxiv*, 2021.04.23.440542 (2021).