

S4-2

DNA double strand break repair and genomic instability

Masamitsu Honma

Division of Genetics and Mutagenesis, National Institute of Health Sciences, Tokyo, Japan

Chromosomal double strand breaks (DSBs) occurring in mammalian cells can initiate genomic instability, resulting deletion, amplification, and translocation. A DSB triggering breakage-fusion-bridge (BFB) cycle could be considered to lead the genomic instability. To elucidate the mechanism, we took two approaches. As the first, we developed cell lines, in which a meganuclease *I-SceI* site is integrated into the genome and a DSB specifically generates at the site by expressing the *I-SceI* enzyme. Almost DSBs at the *I-SceI* were repaired by non-homologous end-joining (NHEJ) resulting simply deletion. Some mutants, however, exhibited complicated DNA rearrangement that involved small deletion combined with an inverted small sequence. BFB initiated by NHEJ between sister-chromatids in S-phase is probably associated with the rearrangement (<3kb). In the second, we employ CGH-microarray analysis (Agilent), which enables to scan the whole genome and efficiently detects large deletions and amplifications. We analyzed cloned cells irradiated with 5Gy γ -ray. Approximately half of clones showed deletion or amplification with >5cM. These deletions and amplifications were frequently observed as side-by-side on a chromosome, implying that BFB initiated by a DSB may contribute to generate the complicated changes. These results indicate that BFB is an important driving force to cause genomic instability and produces complicated rearrangement at small DNA level (<3kb) as well as chromosome level (>5cM).

DNA 二本鎖切断修復と遺伝的不安定性

本間 正充

国立医薬品食品衛生研究所・変異遺伝部

ほ乳類細胞中に生じた DNA の 2 本鎖切断 (DSB) は遺伝的不安定を引き起こし、DNA の欠失、増幅、転座などを引き起こすことが知られている。DSB を引き金とするこれら染色体異常の誘発には breakage-fusion-bridge (BFB) サイクルの関与が考えられる。このメカニズムを明らかにするため、我々は 2 つの手法を試みた。1 つは制限酵素切断部位 (*I-SceI*) をゲノム中に導入した細胞を開発し、そこで生じるたった 1 つの DSB の運命を詳細に解析するターゲット型アプローチであり、もう一つは、放射線による多数のランダム DSB がもたらすゲノム変化を CGH マイクロアレイによって網羅的に解析する非ターゲット型アプローチである。ターゲット型でのたった 1 つ DSB は、ほとんどが非相同型接合 (NHEJ) により修復され、短い欠失を引き起こすが、一部は姉妹染色体間の BFB により逆位を伴う短い再配列を引き起こす (<3kb)。また、放射線による照射では BFB は姉妹染色体間だけでなく、他の染色分体間でも起こり、欠失、増幅だけでなく転座も引き起こし、その大きさは 5cM 以上に及ぶことが明らかとなった。このことは、DSB はそのゲノム中での発生頻度により、量的のみならず、質的にも異なる染色体異常を引き起こすことを示すものである。