TITLE:

Apurinic/aprimidinic endonuclease 1 (APE1) is dispensable for activation-induced cytidine deaminase (AID)-dependent somatic hypermutation in the immunoglobulin gene(Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

Islam, Helena

CITATION:

Islam, Helena. Apurinic/aprimidinic endonuclease 1 (APE1) is dispensable for activation-induced cytidine deaminase (AID)-dependent somatic hypermutation in the immunoglobulin gene. 京都大学, 2020, 博士(医科学)

ISSUE DATE:

2020-07-27

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k22697>

RIGHT:

京都大学	博士（ 医科学）	氏 名	Islam Helena
論文題目	Apurinic/apyrimidinic endonuclease 1 (APE1) is dispensable for activation-induced cytidine deaminase (AID)-dependent somatic hypermutation in the immunoglobulin gene		
(論文内容の要旨)			
<p>Activation-induced cytidine deaminase (AID) initiates DNA breakage in the variable (V) and switch (S) regions of the immunoglobulin (Ig) gene, which results in class switch recombination (CSR) and somatic hypermutation (SHM), respectively. Apurinic/apyrimidinic endonuclease 1 (APE1) has been shown to be important for CSR, and is supposed to cleave at abasic sites when AID-dependently deaminated cytidine is removed by uracil DNA glycosylase (UNG). However, APE1 is unexpectedly dispensable for SHM in the S region and translocation between Ig heavy chain (IgH) and c-myc genes in the mouse B lymphoma cell line, CH12F3-2A. This suggested that APE1 is not involved in AID-dependent DNA breakage, but rather, in DNA repair. In order to investigate detailed molecular mechanisms underlying APE1's involvement in CSR and SHM, we measured apurinic/apyrimidinic (AP) sites via aldehyde reactive probe (ARP) labeling. Results indicated that the frequency of AP sites in the S region was not different between APE1^{-/-}CH12F3-2A and wild type CH12F3-2A cells. To carry out similar experiments in SHM of the V region, we generated an APE1-knockout (APE1^{-/-}) human Burkitt's lymphoma cell line, and compared SHM between APE1-proficient and -deficient BL-2 lymphoma cells. SHM frequencies in the V regions of APE1^{-/-}BL2 and APE1-proficient cells were also similar. Taken together, we showed that AID does not induce AP sites in the S region of the IgH gene, and that APE1 is not necessary for SHM in the V and S regions; however, it is required for DNA repair following DNA breakage in CSR.</p>			

（論文審査の結果の要旨）

AIDは免疫グロブリン（Ig）遺伝子の切断によりSHMとCSRというIg遺伝子多様化を起こす。AIDの作用はDNAかRNAか、直接DNAを切断する酵素は何か、との議論が長年なされてきた。古典的DNA脱アミノ化仮説によればuracil DNA glycosylaseにより生じたapurinic/apyrimidinic（AP）部位DNAがAPE1により切断されるが、これで説明できない結果も数多く観察されている。

申請者は AP 部位検出が容易な APE1 欠損株と AP 部位ラベルプローブを組み合わせ、AP 部位を遺伝子座特異的に検出する方法を初めて開発した。その結果、AID 依存性の AP 部位出現頻度は非常に低く、DNA 脱アミノ化仮説で想定される頻度では生じていないことが示された。

APE 1 が DNA 切断に働くならば、APE1 の欠損に際して SHM の頻度も低下するはずである。新規作成した SHM 観察に適する APE1 欠損細胞を用いて AID 依存性 SHM を解析した結果、APE1 の欠損細胞と野生型 APE1 分子、さらに酵素活性欠損型 APE1 分子を持つ細胞の 3 つは SHM の明らかな差を示さず、SHM においては APE1 は必須ではなかった。

結論として、APE1 分子は DNA 切断に必要とは言えず、さらに AID 依存的な AP 部位の形成も示されず、申請者らがこれまでに示してきたトポイソメラーゼ 1 による DNA 切断がより支持されると考えられた。

以上の研究は抗体産生を司る AID の分子メカニズムの解明に貢献し免疫グロブリン遺伝子の多様化機構の理解に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士（医科学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、令和 2 年 4 月 30 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。