

転写を阻害する DNA 損傷の細胞応答機構とその異常疾患の 分子遺伝学的解析

Molecular genetic analysis of cellular response to
Transcription-blocking DNA damage and its defective disorders
田中 亀代次 (Kiyoji Tanaka)

大阪大学・大学院生命機能研究科・教授



研究の概要

遺伝情報を担う DNA は種々の要因により損傷を受ける。特に、転写鎖上の DNA 損傷は、転写を阻害し細胞死を誘発する。「転写と共役した修復」はこれらの損傷を修復する機構であり、遺伝的早老症コケイン症候群は「転写と共役した修復」を欠損している。本研究では、コケイン症候群発症の原因となる遺伝子 CSA、CSB、XPD、XPF、XPG や XAB2 の機能を解析し、「転写と共役した修復」の分子機構や、コケイン症候群の分子病態の解析を行った。

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・人類遺伝学

キーワード：ヌクレオチド除去修復、転写と共役した修復、転写、コケイン症候群、色素性乾皮症、核内レセプター、TFIIH、RNA ポリメラーゼ II

1. 研究開始当初の背景・動機

遺伝的早老症コケイン症候群(CS)は、「転写と共役した修復」(TCR)機構に異常を持ち、CSA、CSB 遺伝子の突然変異により発症する。他方、高発ガン性遺伝疾患である色素性乾皮症(XP)の原因遺伝子 XPB、XPD、XPF、XPG の突然変異によって、XP と CS 症状を合併する患者が存在する。しかし、TCR の分子機構や CS の分子病態については、これまで十分解明されていなかった。

2. 研究の目的

CS 発症の原因となる CSA、CSB、XPD、XPF、XPG 遺伝子等の機能を解析することにより、TCR の分子機構を解明し、転写を阻害するゲノム損傷を受けた細胞が如何なる損傷応答機構で細胞死を免れているのかを明らかにする。また、CS 徴候の分子病態を解明することにより、癌、遺伝病や老化制御の基盤を提供することを本研究の目的とする。

3. 研究の方法

CS、XP やその類縁疾患の原因遺伝子のクローニング(ゲノミクス)を行い、それらの遺伝子産物の分子生物学的機能解析(トランスクリプトーム、プロテオーム解析を含む)を行った。また、RNAi によるノックダウン細胞の作成による、細胞レベルでの当該遺伝子の機能を解析した。これらの研究に必要な、純水製造装置、ゲルドライヤー、フリーザー、

超低温槽が老朽化したので、新規に購入した。また、蛋白質精製用に SMART System を購入した。

4. これまでの成果

紫外線損傷により誘導される、CSA の核マトリックスへの移行

本現象の分子機構や TCR における意義を解明するため、CSA が核マトリックスへと移行する無細胞系を構築した。CS-A 患者由来の変異 CSA は核マトリックスへ移行しないこと、CSA の核マトリックスへの移行は、CSB 及び TFIIH に依存すること、クロマチン構築や転写伸長活性にも依存することを明らかにした(Molecular and Cellular Biology, 27: 2538-2547, 2007)。本現象が TCR 機構に直接関与するものであることを示唆し、TCR 機構解明に貢献する知見である。

CSA 複合体の機能解析

CSA が DDB1、Roc1、Cullin4A と複合体を形成し、ユビキチンリガーゼ(E3)活性を持つことを明らかにした(Cell, 113: 357-367, 2003)。CSA 複合体 E3 のターゲットの一つは CSB であり、紫外線照射によって CSB がユビキチン化され、プロテアソームによって分解されることを明らかにした(Genes & Development 2006)。さらに、RNA ポリメラーゼ IIo も CSA 複合体 E3 によりユビキチン化されることを示唆した(未発表データ)。RNA ポリメラーゼ IIo がユビキチン化される意義について解析

