

Two independent regions of human telomerase reverse transcriptase(hTERT)are important for its oligomerization and telomerase activity

メタデータ	言語: eng 出版者: 公開日: 2017-10-05 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/15701

学位授与番号	医博甲第1517号		
学位授与年月日	平成14年3月22日		
氏名	荒井邦明		
学位論文題目	Two independent regions of human telomerase reverse transcriptase (hTERT) are important for its oligomerization and telomerase activity (ヒトテロメラーゼ逆転写酵素 (hTERT) の多量体形成やテロメラーゼ活性に重要な役割を果たす hTERT の独立した二領域の検討)		
論文審査委員	主査	教授	井上正樹
	副査	教授	山本博
		教授	馬淵宏

内容の要旨及び審査の結果の要旨

テロメラーゼは染色体末端に存在するテロメアにテロメア繰返し配列を付加する逆転写酵素であり、ヒトテロメラーゼ逆転写酵素(human telomerase reverse transcriptase (hTERT))はその触媒活性サブユニットである。逆転写酵素を含む種々のポリメラーゼは相同性の高いモチーフを有しているが、それらのポリメラーゼにおいて多量体の形成が報告され、その多量体の形成がポリメラーゼの活性化に重要な役割を果たすことが示されている。hTERTも他のポリメラーゼと高い相同性を有することから多量体を形成している可能性が考えられる。そこで本研究では異なる標識を付加した hTERT を用い、GST 融合タンパク質沈降法ならびに免疫沈降法にて hTERT の多量体形成に関して検討し、以下の結果を得た。

1. 昆虫細胞発現系ならびに動物細胞発現系を用いて hTERT タンパク質を発現させ、GST 融合タンパク質沈降法ならびに免疫沈降法にて検討したところ、異なる標識を付加した hTERT 間の結合が認められ、hTERT が多量体を形成していることが示された。
2. 欠損変異型 hTERT を用いて結合部位を検討したところ、逆転写酵素間で保存される RT (reverse transcriptase) モチーフの外側である N 端側ならびに C 端側のそれぞれ独立した 2 領域がこの hTERT 間の結合に重要な役割を果たしていることが示された。
3. 鋳型 RNA である hTR (human telomerase RNA) は hTERT の多量体形成に影響を与えず、hTERT は hTERT 自身のみで多量体を形成することが示された。
4. hTERT の金属結合モチーフの VDV 配列を VAI に置換した変異型 hTERT はドミナントネガティブ効果を示すことが報告されている。この変異型 hTERT は野生型 hTERT と結合し多量体を形成するが、テロメラーゼ活性を有しない TIG-3 細胞にこれらを一過性に発現させてテロメラーゼ活性を TRAP assay にて検討したところ、この変異型 hTERT は野生型 hTERT によるテロメラーゼ活性に対して抑制効果を示した。このことよりテロメラーゼは複数の hTERT が協調して働くことにより発揮されることが示唆された。

以上、本研究は、細胞の不死化や老化に関わるテロメラーゼの触媒活性サブユニットである hTERT の酵素学上の特性解明に貢献を果たし、特異的な阻害剤の開発にも寄与する価値ある研究と判断された。