

ヌクレオチド除去修復反応を調節する細胞内因子の解析

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2022-05-12 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: Matsunaga, Tsukasa メールアドレス: 所属:
URL	https://doi.org/10.24517/00065968

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 3.0 International License.



ヌクレオチド除去修復反応を調節する細胞内因子の解析

Research Project

All

Project/Area Number

09253215

Research Category

Grant-in-Aid for Scientific Research on Priority Areas

Allocation Type

Single-year Grants

Research Institution

Kanazawa University

Principal Investigator

松永 司 金沢大学, 薬学部, 助教授 (60192340)

Co-Investigator(Kenkyū-buntansha)

石垣 靖人 金沢大学, 薬学部, 助手 (20232275)

Project Period (FY)

1997

Project Status

Completed (Fiscal Year 1997)

Budget Amount *help

¥3,000,000 (Direct Cost: ¥3,000,000)

Fiscal Year 1997: ¥3,000,000 (Direct Cost: ¥3,000,000)

Keywords

ヌクレオチド除去修復 / 色素性乾皮症 / 試験管内DNA修復系 / ヒト細胞 / 蛍光物質 / モノクローナル抗体

Research Abstract

近年、高度に精製されたタンパクを用いてヌクレオチド除去修復(NER)反応が試験管内で再構成された。単純化した試験管内系の特徴を生かして基本的NER反応の詳細な作用機構を解明していく一方で、細胞内における他のDNA代謝機構との共存・協調のメカニズムや細胞内の様々なネットワークの中で働くための調節機構を明らかにする必要がある。本研究では、NER機構と相互作用し、基本的NER反応を正、あるいは負に調節する細胞内因子を同定・単離することを目的とした。本年度はまずアッセイ系の確立、および材料の調製を試みた。

1.NERの試験管内アッセイ系をスクリーニング系として用いるために、³²P標識を必要としない非RIの簡便なアッセイシステムの開発を試みた。蛍光物質をDNA損傷と見立て特定部位に導入した基質DNAを用いることによって、RIで標識することなく損傷を直接蛍光で追跡することが可能となった。また、作製した基質DNAは長期

保存が可能となり、再現性の高い系として期待される。問題点として、RIを使用した場合に比べて検出感度が劣ることが挙げられるが、現在基質DNAのデザインの改善などいくつかの改良を行っている。

2.再構成系の確立のために、種々のNER因子をリコンビナントタンパクとして調製する必要があり、各遺伝子をバキュロウィルス/昆虫細胞発現用ベクターにサブクローニングし、最終的にリコンビナントウィルスを得た。現在までにXPG、XPA、XPF-ERCC1、およびXPC-hHR23Bが得られ、XPGはすでにリコンビナントタンパクとして精製された。

3.各NER因子に対するモノクローナル抗体の樹立を目指し、まずMBP-XPG融合タンパクを免疫原としてマウスを免疫し、XPGに対するモノクローナル抗体4種を作製した。またERCC1とXPFに対するモノクローナル抗体の作製も現在進行している。


Report (1 results)


1997 Annual Research Report


Research Products (3 results)

All Other

All Publications (3 results)

[Publications] Morioka,H.: "Antibodies specific for(6-4)DNA photoproducts:Cloning,antibody modeling and construction of asingle-chain Fv derivative." Biochim.Biophys.Acta. (in press). (1998) 

[Publications] Kobayashi,N.: "Supranuclear melanin caps reduce ultraviolet-induced DNA photoproducts in human epidermis." J.Invest.Dermatol.(in press). (1998) 

[Publications] Ishigaki,Y.: "An UVB-carcinogenesis model with KSN mude mice." J.Radiat.Res.(in press). (1998) 

URL: <https://kaken.nii.ac.jp/grant/KAKENHI-PROJECT-09253215/>

Published: 1997-03-31 Modified: 2016-04-21