

除去修復エンドヌクレアーゼ機能とその欠損による 原子病態の生化学的解析

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/10.24517/00065976

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



除去修復エンドヌクレアーゼ機能とその欠損による原子病態の生化学的解析

Research Project

All

Project/Area Number

09269207

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

¥2,200,000 (Direct Cost: ¥2,200,000)

Fiscal Year 1997: ¥2,200,000 (Direct Cost: ¥2,200,000)

Keywords

ヌクレオチド除去修復 / 色素性乾皮症 / エンドヌクレアーゼ / ミスマッチ修復 / ノックアウトマウス / 遺伝子不安定性 / Two-hybridシステム / モノクローナル抗体

Research Abstract

XPGとXPE-ERCC1タンパクは、ヌクレオチド除去修復(NER)機構においてそれぞれ3',5'切断酵素として働くが、本来はバブルやループなどの特殊なDNA構造を基質とするエンドヌクレアーゼである。これらの遺伝子(XPGあるいはERCC1)を欠損したマウスはいづれも成長阻害を示し、離乳前にすべて死亡する。本研究では、この両エンドヌクレアーゼのNER機構以外での機能に着目し、その本体を明らかにすることを目的とした。本年度の主な研究成果は以下のとおりである。

1.バキュロウィルス/昆虫細胞系を用いてXPGタンパクを高発現させ、3種のカラムステップにより精製した。様々なDNA基質を用いて切断活性を調べたところ、1-3ntの

バブル(塩基ミスマッチ)型DNA基質に対しても切断活性を示すことが明らかとなった。また、3ntのループ(IDミスマッチ)型DNA基質に対する切断活性も認められ、酵素活性的にはDNA中に生じたミスマッチ部分に対してXPGが働き得る可能性が示唆された。

2.放医研の塩見らによって樹立されたxpgノックアウトマウス胎児由来細胞を継代培養したところ、最初は正常あるいはヘテロ細胞より増殖率が低かったものの、途中から急激に増殖率が上昇し、正常やヘテロ由来細胞よりも早く株化した。4継代ごとに細胞よりDNAを抽出して、マイクロサテライト解析を行ったところ、調べた8種類のプライマーのうち2種類で継代に伴ったバンドパターンの変化が観察された。

3.酵母のTwo-hybridシステムを用いてXPGタンパクと相互作用する可能性のある4つのクローンを分離した。現在、塩基配列の決定、ならびに各相互作用についてのin vitroでの確認を行っている。

4.MBP-XPG、あるいはMBP-ERCC1を抗原としてマウスに免疫を行い、これまでにXPGタンパクに対するモノクローナル抗体を4種類樹立した。

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 a single-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 nude mice." J.Radiat.Res.(in press). (1998) ▼

URL: <https://kaken.nii.ac.jp/grant/KAKENHI-PROJECT-09269207/>

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