

DNA修復関連因子を利用したDNA損傷検出系の開発

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2022-06-24 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/10.24517/00066498

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



DNA修復関連因子を利用したDNA損傷検出系の開発

Research Project

All ▼

Project/Area Number

11878091

Research Category

Grant-in-Aid for Exploratory Research

Allocation Type

Single-year Grants

Research Field

環境影響評価(含放射線生物学)

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)
二階堂 修 金沢大学, 薬学部, 教授 (60019669)

Project Period (FY)

1999

Project Status

Completed (Fiscal Year 1999)

Budget Amount *help

¥2,100,000 (Direct Cost: ¥2,100,000)
Fiscal Year 1999: ¥2,100,000 (Direct Cost: ¥2,100,000)

Keywords

DNA損傷 / モノクローナル抗体 / キャピラリー電気泳動 / ヌクレオチド除去修復 / 紫外線

Research Abstract

1)リコンビナント修復関連因子の調製と各因子に対するモノクローナル抗体の作製

当初、本研究で使用する修復関連因子としてDNA末端に結合するKu抗原、ミスマッチ塩基対に結合するMutS、バブルやループ構造に特異的に切断を入れるXPGやXPF-ERCC1等を想定したが、今年度はXPG,XPF-ERCC1に加えて、ヌクレオチド除去修復のDNA損傷結合因子であるXPA、XPC-hHR23Bをリコンビナントタンパクとして調製した(MutSは市販)。XPA以外は全てバキュロウィルス/昆虫細胞高発現系を利用し、XPA、XPF、ERCC1にはヒスチジン(His)のタグを付けた。一方、各因子に対するモノクローナル抗体は、抗XPGと抗ERCC1抗体(2種ずつ)を昨年度までに、抗XPA(3種)と抗XPC(1種)抗体を今年度新たに樹立した(抗His抗体は市販)。

2)キャピラリー電気泳動法を用いたDNA損傷検出系の開発

本研究では、修復関連因子とそれらに対する特異抗体、ならびにキャピラリー電気泳動装置を利用したDNA損傷検出系の開発を目指した。そこでまず、これまでに作製したシクロブタン型ピリミジン二量体に対するTDM-2モノクローナル抗体を利用して条件設定を試みた。紫外線(0-10J/m²)を照射された細胞から抽出したDNA(熱変性したもの)をTDM-2抗体、AlexaTM488で標識された抗マウスIgG(H+L)2次抗体と反応させた後、ノンコテーィリングシリカキャピラリーで分離した。488nmのアルゴンイオンレーザーで2次抗体の蛍光を検出したところ、DNA-TDM-2抗体-2次抗体の複合体に由来すると思われるピークが検出され、その面積は紫外線線量に依存して増加した。本年度は抗体を用いた予備実験しかできなかったが、キャピラリー電気泳動法を用いてDNA損傷を検出できる見通しが立ったため、今後は調製した各種修復関連因子と抗体を利用することにより、様々なDNA損傷の検出系へと応用していく予定である。

Report (1 results)

1999 Annual Research Report

Research Products (5 results)

All Other

All Publications (5 results)

[Publications] Ohtoshi,E.: "Respective roles of cyclobutane pyrimidine dimers, (6-4)photoproducts and minor photoproducts in UV mutagenesis of repair deficient xeroderma pigmentosum A cells."Cancer Res.. (in press). (2000) ▼

[Publications] Torizawa,T.: "DNA binding mode of the Fab frangment of a monoclonal anitibody specific for cyclobutane pyrimidine dimer."Nucleic Acids Res.. 28(4). 944-951 (2000) ▼

[Publications] Harada,Y.-N.: "Postnatal growth failure, short life span, and early onset of cellular senescence and subsequent immortalization in mice lacking the xeroderma pigmentosum group G gene."Mol.Cell.Biol.. 19(3). 2366-2372 (1999) ▼

[Publications] Ishigaki,Y.: "Development and characterization of a DNA solar dosimeter."J.Photochem.Photobiol.B. 50(2-3). 184-188 (1999) ▼

[Publications] Kobayashi,H.: "Probing the interaction between a high-affinity single-chain Fv and a pyrimidine (6-4) pyrimidone photodimer by site-directed mutagenesis."Biochemistry. 38(2). 532-539 (1999) ▼

URL: <https://kaken.nii.ac.jp/grant/KAKENHI-PROJECT-11878091/>

Published: 1999-03-31 Modified: 2016-04-21