



Title	Characterization of XPC-hHR23B complex in nucleotide excision repair and investigation of another role of hHR23 proteins
Author(s)	横井, 雅幸
Citation	大阪大学, 1998, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.11501/3143781
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏名	横井 雅幸
博士の専攻分野の名称	博士(理学)
学位記番号	第13667号
学位授与年月日	平成10年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 理学研究科生理学専攻
学位論文名	Characterization of XPC-hHR23B complex in nucleotide excision repair and investigation of another role of hHR23 proteins (ヌクレオチド除去修復因子XPCとhHR23の機能解析)
論文審査委員	(主査) 教授 近藤 寿人
	(副査) 教授 花岡 文雄 教授 品川日出男 教授 倉光成紀

論文内容の要旨

XPC-hHR23B複合体の持つ損傷DNAへの親和性と、本複合体がTFIILと相互作用する可能性が示唆されていることから、私は、本複合体がヌクレオチド除去修復(NER)機構によるゲノム全体の修復(GGR)において、損傷認識からNER因子の導入に極めて中心的な役割を担うのではないかと想定した。この仮定に基づき、免疫沈降法により細胞抽出液中からXPC-hHR23B複合体とTFIILとの相互作用を示唆する結果を得た。さらに精製蛋白質および組換え蛋白質を用いた実験から、本複合体とTFIILは確かに直接相互作用すること、そしてこの相互作用は、TFIIL構成因子であるXPB蛋白質およびp62蛋白質とXPC蛋白質との結合によるものであることを示した。これらのデータにより、これまで明らかでなかった両複合体間の相互作用を証明した。また、DNAセルロースによる各種XP群細胞抽出液に対する共沈降実験の結果、NERが正常な細胞の抽出液からは、DNA結合フラクションにTFIILが検出されるのに対し、XP-C群細胞抽出液からのみTFIILの回収ができなかった。しかし、XPC-hHR23複合体を予め加えることで、XP-C群細胞抽出液からTFIILが回収されることから、本複合体は、TFIILのDNAへの導入、あるいはDNA上でのTFIILの保持に必要であることが強く示唆される。この傾向は、損傷DNAを用いた実験で特に顕著であることから、実際のGGRにおけるXPC-hHR23B複合体の役割は損傷部位へのTFIILの導入過程にあると予想される。

また特にhHR23B蛋白質については、その一次構造上の特徴からユビキチン系蛋白質分解への関与が示唆されていた。そこで酵母two-hybrid法によるスクリーニングを行った結果、26Sプロテアソーム構成因子の一つS5a蛋白質と結合することを明らかにした。本論文では、クローニングしたS5aを大腸菌の蛋白質発現系で多量発現し、組換えS5aがhHR23Bおよびもう一つの出芽酵母RAD23ヒトホモログであるhHR23Aと結合することをin vitroの実験から明らかにした。数種類のS5a変異体蛋白質を発現させ、hHR23AあるいはhHR23Bとの相互作用を解析した結果、S5aのポリユビキチン鎖結合領域とは異なる領域で直接相互作用していること、さらにhHR23Bの変異体を用いた実験から、同蛋白質のユビキチン様領域がS5aとの結合に必要十分であることが分かった。また、HeLa細胞抽出液(S100)のグリセロール密度勾配遠心分画サンプルをウェスタンプロットで解析した結果、両hHR23蛋白質が26Sプロテアソームの分布と一致したことから、hHR23蛋白質がユビキチン系蛋白質分解に直接関与している可能性が初めて示唆された。

論文審査の結果の要旨

hHR23 A/B は酵母 Rad23 のヒトホモログで細胞内に豊富な蛋白質である。本研究は、hHR23 A/B 蛋白質の機能について解析したものである。

申請者は、まず DNA 損傷のヌクレオチド除去修復に関与する XPC-hHR23B 複合体が TFIIH と直接に結合することを明らかにし、XPC-hHR23B の役割が、TFIIH を DNA 損傷部位に導くことにあるというモデルを示した。

申請者はまた、hHR23 蛋白質がユビキチン様の構造を持つことに注目し、hHR23 が 26S プロテアソームの構成因子 S5a に結合することを明らかにした。また hHR23 が S5a への結合を介して、ATP 依存的に 26S プロテアソームに組み込まれることを示唆する結果を得た。これらの結果は、hHR23 がユビキチン系蛋白質分解に直接関与する可能性を示した。

本研究は、ヌクレオチド除去修復と細胞内蛋白質メタボリズムの双方に関与する hHR23 蛋白質について新しい知見をもたらしたもので、博士（理学）の論文として価値あるものと認める。