

Title	細胞周期チェックポイントにおけるChk1の生体内機能の解析
Author(s)	丹伊田, 浩行
Citation	癌と人. 31 P.30-P.30
Issue Date	2004-05-10
Text Version	publisher
URL	http://hdl.handle.net/11094/23599
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

細胞周期チェックポイントにおけるChk1の生体内機能の解析

丹伊田 浩 行*

我々の体を構成している個々の細胞は自然界において紫外線や放射線などDNAに傷を与える刺激に常に曝されている。DNAに損傷を抱えたまま細胞が分裂、増殖してしまうとDNAにコードされている重要な遺伝情報に誤りをきたすこととなり、やがては癌などの細胞増殖を制御できない異常な細胞を出現させる原因となりうる。このため生体の恒常性を維持するために我々の細胞はDNAの傷が修復されるまで細胞増殖を止める機構を発達させた。この機構をチェックポイントと呼ぶが、チェックポイントにおいて主要な仲介を行う酵素にChk1というキナーゼがある。我々は哺乳動物の細胞においてChk1の果たす役割を解明し、抗癌剤開発の標的となりうる細胞周期制御機構を理解するためにマウスの胚性幹細胞(ES細胞)内のChk1遺伝子を破壊してその影響を調べようと考えた。

実際、相同組み換え法を用いてマウスES細胞内においてChk1遺伝子をリコンビナーゼCre依存的に破壊することができる細胞を樹立した。この細胞にアデノウイルスベクターを用いてCreを発現させChk1を破壊したところ細胞はアポトーシスにより死滅していった。この時、細胞周期のS期に存在する細胞とM期に存在する細胞の割合がコントロールにくらべ増えていることが観察された。このことよりChk1はチェックポイント機構が動いていない通常の細胞周期においてもDNA複製と染色体の分離のタイミングを調節していることが示唆された。この表現形の一因であるがChk1が欠損した細胞ではDNA複製開始に必須のAsk/Cdc7キナーゼの細胞内での活性の増大と細胞周期エン

ジンであるCyclinB/Cdc2の活性を抑制するためのTyr15のリン酸化が減弱していることがわかり、遺伝的にChk1の下流に位置することがあきらかにされた。このためS期細胞の増加とG2期からM期に進行する細胞の増加が引き起こされたものと考えられる。

次に細胞内においてChk1の機能解析をするために、樹立した細胞内にCAGプロモーターにより発現が誘導されるChk1の変異体を導入し相補試験を行った。Cre依存的に内在性のChk1を破壊すると野生型のChk1が細胞増殖において機能相補したのに対し、Ser317およびSer345をAlaに置換した変異体は相補できなかった。これらの部位はチェックポイントが活性化された際にATRによってリン酸化されることが報告されているアミノ酸残基である。これらのリン酸化の意義については今後さらに検討の余地が残される。

今回研究対象としたChk1のように欠損すると細胞レベルで致死となる分子の働きを解析するためには本研究で用いたコンディショナルターゲットという、必要に応じて遺伝子を破壊することを可能にする技術が必要となるが、実際に細胞に適応させるには多くの労力を要した。しかし重要な分子の多くは細胞レベルで必須であったり、欠損した場合発生の段階で致死となるため、真にその機能を解析するためには今回用いた高度な技術を応用していくことが必要であると感じている。

*名古屋市立大学大学院医学研究科代謝細胞生化学(2)
平成14年度一般学術研究助成金交付者