



Title	色素性乾皮症A群の遺伝子クローニング
Author(s)	荻田, 善三郎
Citation	大阪大学, 1990, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/37143">https://hdl.handle.net/11094/37143</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">＜a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"&gt;https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> >大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

氏 名・(本籍)	おぎ 荻	た 田	ぜん 善	ざぶ 三	ろう 郎
学 位 の 種 類	医	学	博	士	
学 位 記 番 号	第	9 0 7 0	号		
学位授与の日付	平 成	2 年	3 月	2 4 日	
学位授与の要件	医学研究科生理系専攻				
	学位規則第 5 条第 1 項該当				
学位論文題目	色素性乾皮症 A 群の遺伝子クローニング				
論文審査委員	(主査) 教 授	岡田 善雄			
	(副査) 教 授	岡田伸太郎	教 授	上田 重晴	

## 論 文 内 容 の 要 旨

### 〔 目 的 〕

色素性乾皮症 (XP) は、常染色体性の劣性遺伝疾患で、DNA修復能に異常をもち、皮膚癌等を高率に発症するヒトの代表的な高発がん性遺伝疾患である。XPには、細胞融合法により、AからHさらに Variant の 9 つの遺伝的相補性群が存在する。日本で最も発症頻度が高く、臨床症状も最も重い A 群 XP 遺伝子のクローニングを、A 群 XP 細胞を受容細胞にしたマウスゲノム DNA のトランスフェクション法により行うことを本研究の目的とする。

### 〔 方法ならびに成績 〕

DNA修復能の異常のため、紫外線 (UV) に高感受性を示す A 群 XP 細胞 (XP2OSSV) に、正常マウス胎仔ゲノム DNA と pSV2gpt をコトランスフェクションした。マイコフェノール酸存在下でまず pSV2gpt 形質転換 XP 細胞を選別してのち、UV 照射し UV 抵抗性 XP 細胞を選別した。約  $1.6 \times 10^5$  個の pSV2gpt 形質転換 XP 細胞より、2 個の UV 抵抗性トランスフェクタントを得た。これら第 1 次のトランスフェクタントのゲノム DNA と pSV2gpt を再び XP 細胞にコトランスフェクションし、約  $5 \times 10^5$  個の pSV2gpt 形質転換 XP 細胞より 1 個の UV 抵抗性の第 2 次 XP トランスフェクタントを得た。マウス繰り返し配列をプローブにしたサザンブロット解析で、第 1 次のトランスフェクタントには多くの、第 2 次のトランスフェクタントにはわずかのマウス DNA が取り込まれていることがわかった。第 2 次トランスフェクタントに含まれるマウス DNA を、マウス繰り返し配列をプローブにして、コスミドおよびファージベクターにクローニングした。第 2 次トランスフェクタントには約 70 kb のマウス DNA が取り込まれていることが明らかになり、その一部 (2 つのファージクローン、EMBL 3/24

BとEMBL 3/60 Aによってクローニングされる領域)をA群XP細胞にトランスフェクションすると高率にUV抵抗性のXP細胞が得られ、A群XP細胞のDNA修復異常を相補するマウスDNA修復遺伝子のクローニングに成功した。

この遺伝子は、他の家系のA群XP細胞にも有効であったが、C、D、F、G群XP細胞には無効であり、A群XP特異的であった。この遺伝子からどのようなサイズのmRNAが転写されているかを調べるため、24Bと60Aのインサートを40個ほどの小さな断片とし、ノザンブロット解析のプロープとした。

24Bの一部のDNA断片をプロープに用いたノザンブロットで、マウス細胞と第2次のXPトランスフェクタントには約1 kbのmRNAが、正常ヒト細胞では1.3 kbと1.0 kbのmRNAが認められた。

しかし、3つのA群XP細胞ではいずれのmRNAも見出されなかった。対応するcDNAを、この24Bの一部のDNA断片をプロープにして、Okayama pCD2ヒトおよびマウスcDNAライブラリーよりクローニングした。pCD2h64(ヒト)、pCD2m95(マウス)クローンは、A群XP細胞にトランスフェクションすると高率にUV抵抗性の細胞が得られ、完全長のcDNAと思われた。それぞれのcDNAインサートは、1.3 kbと1.0 kbであり、先に述べたmRNAのサイズとよく一致した。我々のクローニングした遺伝子を、XPAC遺伝子(Xeroderma Pigmentosum group A Complementing)と名づけた。ヒトXPAC cDNAをプロープに、20家系のA群XP細胞のmRNAをノザンブロット法で調べたところ、大部分の患者では、正常細胞で認められた、1.3 Kbと1.0 Kbの両方のmRNAが欠失していた。BからH群およびVariant XP細胞ではこれらの2つのmRNAが変化なく認められた。

#### 〔総括〕

マウスゲノムDNAのA群XP細胞へのトランスフェクションによって、A群XP細胞のDNA修復異常を相補するDNA修復遺伝子(XPAC遺伝子)をクローニングした。XPAC遺伝子はA群XPのDNA修復異常のみを相補できること、大部分のA群XP患者でXPAC遺伝子の転写物に異常が認められたことにより、XPAC遺伝子はA群XP遺伝子そのものであると考えられる。

### 論文の審査結果の要旨

色素性乾皮症(XP)は、ヒトの代表的な高発がん性遺伝疾患であり、DNA修復過程に異常をもつ。発がんDNA修復の関連性を解く上で非常に重要なヒト遺伝病であるが、これまでXP遺伝子や蛋白の分離は成功しておらず、XPの分子レベルでの異常は不明であった。今回、XP遺伝子が荻田君らにより始めてクローニングされ、XPの異常やヒトのDNA修復の実体を明らかにする上で大きな研究成果と考えられる。よって、本論文を医学博士の学位を授与する価値があると認定する。