

Title	Genomic structure, chromosomal localization and identification of mutations in the xeroderma pigmentosum variant (XPV) gene
Author(s)	砂川, 真弓
Citation	大阪大学, 2006, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/46239
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">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed >大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏 名	砂 川 真 弓
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 20075 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 18 年 3 月 24 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科生体制御医学専攻
学 位 論 文 名	Genomic structure, chromosomal localization and identification of mutations in the xeroderma pigmentosum variant (XPV) gene (ヒト XPV 遺伝子のゲノム構造と染色体座位ならびに XPV 患者の変異点の同定)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 花岡 文雄 (副査) 教 授 杉野 明雄 教 授 田中亀代次

論 文 内 容 の 要 旨

「目的」

紫外線 (UV) 過敏、色素沈着を主症状とし、高率で皮膚癌を発症する色素性乾皮症バリエーション群 (XP-V) の原因遺伝子産物は、UV により生じる DNA 損傷であるシクロブタン型ピリミジンダイマーに対し、効率良く正しい塩基を重合して乗り越え複製を行う DNA ポリメラーゼ η ($\text{pol } \eta$) である。本研究では、XPV ゲノム DNA の構造を決定し、XPV 患者の遺伝子診断を可能にすることを目的とする。

「方法ならびに成績」

XPV cDNA をプローブとして PAC ヒトゲノム DNA ライブラリーからハイブリダイゼーションスクリーニングにより XPV ゲノム DNA を含むクローン (71N21) を単離した。制限酵素処理により得た DNA 断片をサブクローニングし、シーケンスによりエクソン/イントロンの境界を決定した。得られた配列よりプライマー DNA を設計し、71N21 を鋳型としてイントロン間の長さを PCR により同定した。XPV 遺伝子は、終止コドンまでがおおよそ 40 Kbp にわたる領域にコードされ、11 のエクソンに分断されていた。開始コドンは第 2 エクソンに含まれていた。RNase 保護実験により同定した転写開始点には、イニシエータ様の配列が存在した。その上流に TATA 配列は見られず、GC 配列に富むというハウスキーピング遺伝子様の特徴を呈していた。蛍光でラベルした 71N21 遺伝子を用いて *in situ* ハイブリダイゼーション法によりクロモソームマッピングを行った結果、XPV 遺伝子はヒト染色体 6p21.1 と 6p12 のバンド境界付近に位置することがわかった。次に、XP-V 患者由来の細胞である XP1RO、XP30RO、XP2SA、XP7TA を用いて、これらの XPV 遺伝子のゲノム DNA 上の変異点をシーケンスにより同定した。cDNA の解析より XP1RO 細胞はヘテロ変異体であり、その major allele にみられた 141nt の欠失は、ゲノム DNA の解析から、エクソン 2 のスプライスアクセプターサイトの G から C への点突然変異によりエクソン 2 が欠失して生じたものと説明できた。XP1RO 細胞の minor allele に見られた点突然変異は、ゲノム DNA 上に存在した。その他の XP-V 患者由来の細胞では XPV cDNA の解析から、それぞれ種類の点突然変異または数塩基の欠失が検出されていた。しかしこれらの患者由来細胞はすべて、XPV mRNA の発現が正常由来細胞に比べて低かったことから、cDNA の解析からは、これら

の患者由来細胞で、変異の検出された allele に加えて発現の弱いあるいは発現していない allele が存在する可能性が除外できなかった。しかし、ゲノム DNA の解析から、これらはすべてホモの変異体であることが確認された。

「総括」

本研究により、*XPV*ゲノム DNA の構造を決定し、*XPV*ゲノム DNA のエキソンとその周辺の配列をシーケンスできる多数のプライマーを設計し、それらを用いて *XP-V* 患者由来細胞の *XPV*ゲノム DNA 上の変異点を同定した。また、クロモソームマッピングよりヒト染色体上の *XPV*遺伝子の遺伝子座を同定した。*XP-V* 群は損傷乗り越え複製機構の異常が原因となる疾患であり、ヌクレオチド除去修復機構に異常を示すその他の *XP* (*A-G* 群) とは原因となる機構が異なるため、その治療において、*XP-V* 群とその他の *XP* (*A-G* 群) とを正しく区別して診断することが重要である。本研究により、*XP-V* 患者の遺伝子診断がより容易に正確に行えるようになることが期待される。

論文審査の結果の要旨

色素性乾皮症バリエーション群 (*XP-V*) は、日光過敏、高発がんを特徴とする常染色体性劣性遺伝疾患である。当研究室では、その原因遺伝子が、ヒト DNA ポリメラーゼ η (*POLH*) であることを明らかにした。申請者は、ヒト *POLH* 遺伝子のゲノム DNA の構造及び染色体座位を決定した。そして、*POLH*ゲノム DNA のエキソンとその周辺の配列をシーケンスできる多数のプライマーを設計し、それらを用いて *XP-V* 群患者由来の細胞の *POLH*ゲノム DNA 上の変異点を同定した。*XP-V* 群は、損傷乗り越え複製機構の異常が原因となる疾患であり、ヌクレオチド除去修復機構に異常を示すその他の *XP* (*A-G* 群) とは原因となる機構が異なるため、その治療において、*XP-V* 群とその他の *XP* (*A-G* 群) とを正しく区別して診断することが重要である。本研究は、*XP-V* 群患者の遺伝子診断を可能にし、遺伝子治療への可能性を拓く上で重要な意義を持つと思われるため、学位の授与に値すると考えられる。