



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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

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 (<i>XPV</i>) gene (ヒト <i>XPV</i> 遺伝子のゲノム構造と染色体座位ならびに <i>XPV</i> 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アント群(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 (pol η)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、シークエンスによりエキソン/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よそ40Kbpにわたる領域にコードされ、11のエキソンに分断されていた。開始コドンは第2エキ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上の変異点をシークエ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、エキソン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キソン2が消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、それぞれ一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クエ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

色素性乾皮症バリアント群 (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クエ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。