

DNA損傷研究における 遺伝子組換え実験の 開始について

放射線DNA損傷機構研究グループ

鹿園 直哉

放射線により損傷を受けたDNAは、細胞中では修復蛋白質と呼ばれる一群の酵素により効率良く修復される。しかし、ごく一部の損傷は修復されず、突然変異や発ガンの原因となると推測されている。我々放射線DNA損傷機構研究グループの目的は、どのようなDNA損傷であれば修復されるのか、あるいは修復されずに放射線生物影響の原因となるのかを明らかにすることにある。そのためには、さまざまな種類の放射線をDNA試料に照射し、修復酵素が実際にこれを修復できるか否かを観察することが不可欠である。このような研究では、実験に使うための修復酵素を大量に確保することが必要とされる。さらに我々は、さまざまな修復酵素が転写や複製といった機能とどのように協調しながら損傷部位の修復を行いゲノムを安定化しているのか、その作用機序（ダイナミクス）を調べることを計画している。

上記の研究のためには、遺伝子組換え実験は必須な手法である。遺伝子組換え技術は、1970年代に開発されて以来、生物の仕組みを明らかにするための基礎研究を始め、医薬品や酵素の効率的な製造等に活用されてきた技術であり、有用性・汎用性が非常に高いものである。今日に至り、ほぼ全てのバイオサイエンス分野でこの技術が用いられており、もはや特別なものではない。遺伝子組換え実験は、平成16年2月19日から「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律」によって規制されている。この法律に基づき、東海研究所で遺伝子組換え実験を開始するため、「東海研究所遺伝子組換え実験安全管理規則」が制定された。さらに遺伝子組換え実験安全委員会により、東海研究所内の全ての遺伝子組換え実験計画が審議され、平成17年3月10日に東海研究所長によって承認された。

遺伝子組換え実験の基本的な流れは、次の通りであ

Starting Studies on DNA Damage Using Recombinant DNA Technique

Naoya SHIKAZONO

Research Group for Radiation Damage to DNA

る。まず、研究対象となる遺伝子やその一部のDNA分子（供与核酸）を用意する。これを、ベクター（運び屋：通常はゲノムのDNAとは区別されるプラスミドなど、細胞中に入り込むことができるDNA分子。目的に応じた数多くの種類が製品化されている）に組込む。この供与核酸-ベクター複合体を、供与核酸を発現させるための生物系（宿主）に導入し、遺伝子組換え体を作成する。法律に基づく省令で、供与核酸、ベクター、宿主の安全レベルは細かく規定されている。実験者はまず、自分たちの使用するこれらの試料がどのレベルにあるのかを知らなければならない。我々放射線DNA損傷機構研究グループの実験では、研究用に開発され既に安全が確認されている系（生物）や遺伝子（DNA）を使用し、P1レベルの封じ込めが必要となる。P1レベルの施設は、基本的には通常の生物学実験室としての構造・設備を有すること（窓や扉を閉じ施錠できること、手洗い等があることなど）が必要とされる他、加圧滅菌装置や70%エタノールの噴霧器などの遺伝子組換え生物等を不活性化するための設備を有する必要がある。

冒頭で述べたように、我々が具体的に計画している遺伝子組換え実験としては、損傷したDNAを修復するための修復タンパク質を精製する実験がある。その実験では、哺乳類細胞中でDNAが障害を受けた時にそれを修復するタンパク質である、OGG1やNTH1の遺伝子を供与核酸とし、大腸菌とプラスミドを宿主ベクター系としてそれらのタンパク質の調製を行う。さらに我々は、各種の放射線により損傷を受けた遺伝子の転写がどのような影響を受けるのかを解析したいと考えている。この目的のために、蛍光のルシフェラーゼ遺伝子やクラゲのGreen Fluorescent Protein (GFP) 遺伝子といった、発光や蛍光で高感度に検出できる蛋白質の遺伝子を“レポーター”遺伝子として用い、こ

れを供与核酸として大腸菌などに導入し、遺伝子の発現状況をモニターする予定である（図1）。

以上述べてきたように、遺伝子組換え実験を利用す

ることで放射線DNA損傷の研究の新しい展開が期待されるが、管理規則に基づき安全に実験を行うことが必要であることは言うまでもない。

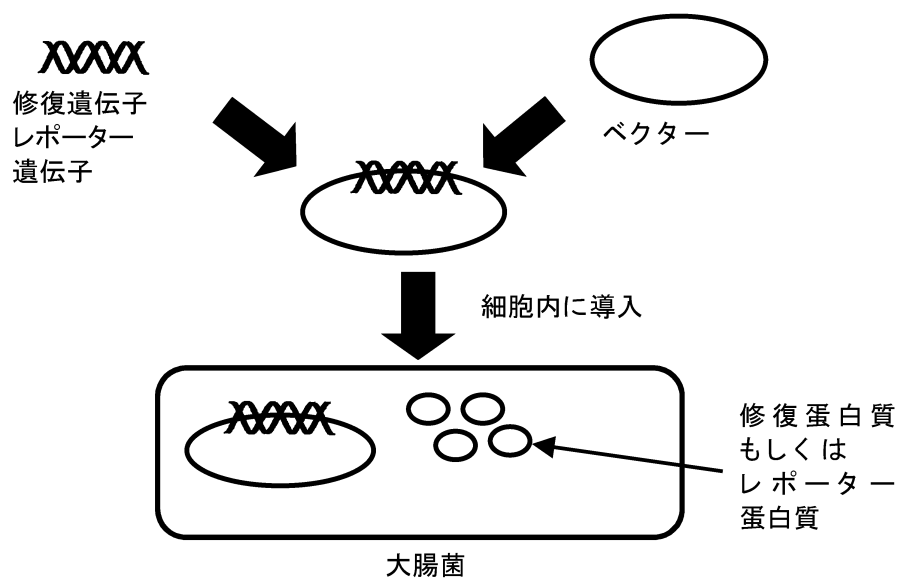


図1 放射線DNA損傷機構研究グループで行う遺伝子組換え実験の概要