

細胞内のゲノム DNA は放射線、紫外線などの外的要因や、代謝により生じる酸化物質などの内的要因により常にストレス環境に晒されている。DNA 修復機構はそれらが原因で生じた DNA 損傷を迅速に修復する極めて精密かつダイナミックな分子機構である。

これまで PARP1 など DNA 修復に関する因子をターゲットにすることで様々な抗がん剤の開発が試みられてきたが、細胞周期やターゲットとなるがんの特異性が原因で効率良く細胞死を誘導することが困難であった。本研究では PNKP という DNA 損傷末端をリン酸化および脱リン酸化する酵素に着目し、その活性制御機構を解析することで高効率な抗がん剤の開発を目指した。

PNKP はこれまで DNA 二本鎖切断修復機構である非相同末端結合修復と一本鎖切断修復に関与することが報告されていたが、その他の修復機構への関与は不明な点が多い。本研究ではヒト骨肉腫細胞 U2OS において siRNA により PNKP をノックダウンした状態でヒドロキシウレア (Hydroxyurea: HU) 処理により DNA 複製ストレスをかけると細胞周期チェックポイント反応である Chk1 のリン酸化がコントロールと比較して減少していることが判明した。さらに Chk1 の阻害剤処理をすると DNA 複製ストレス反応の一つである RPA のリン酸化が観察されるが、PNKP のノックダウン細胞では RPA のリン酸化レベルも減少していることが判明した。以上の実験結果は PNKP が DNA 複製ストレス応答に関与している可能性を示唆している。今後さらに解析を進め、PNKP が DNA 複製ストレス応答における役割を明らかにしていきたい。

U2OS 細胞における PNKP ノックダウン条件下での DNA 複製ストレスに対する細胞周期チェックポイントタンパク質 Chk1 のリン酸化レベルの減少

