

**研究テーマ****DNA損傷応答における細胞運命決定機構の解明****1. はじめに 緒言 目的 背景 序論**

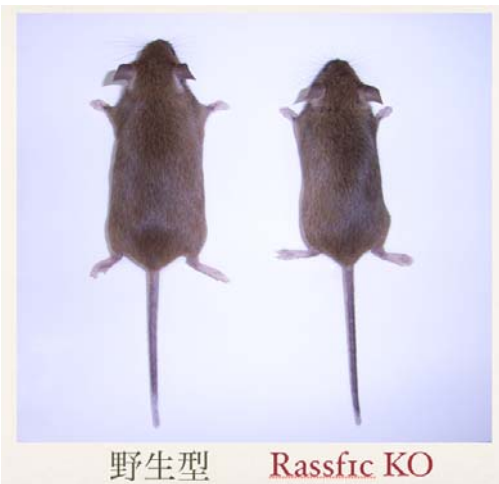
ゲノムDNAは様々な内的・外的要因によって常に損傷の危機に曝されている。軽度のDNA損傷に対しては一連のDNA修復酵素群のはたらきにより細胞の恒常性が維持される。一方、過度のDNA損傷を受けた細胞はアポトーシスをおこし、速やかに排除されることが知られている。ストレス応答性MAPキナーゼであるJNKは紫外線やDNA損傷薬剤を始めとする様々なストレスにより活性化され、その活性化状態の違いにより細胞の生死を規定する分子スイッチである。しかしながらこれら応答因子の生体レベルにおける機能に対する理解は少ない。そこで本研究ではDNA損傷応答因子の遺伝子破壊マウスを新たに作出し、その生体レベルにおける機能解析を試みた。

**2. 方法**

最近我々のグループは、核内因子RASSF1CがDNA損傷時に細胞質でのJNKの持続的活性化を誘導することを見出した。RASSF1Cは培養細胞を用いた研究からがん抑制遺伝子の一つと考えられてはいるが、生体レベルでの機能解析報告は皆無である。そこでRASSF1Cの生理機能を明らかにするため、RASSF1C遺伝子破壊マウスを作出し、RASSF1Cの生理機能について解析を試みた。

**3. 結果 研究成果**

Rassf1c遺伝子特異的なターゲティングベクターを構築、E14K ES細胞へエレクトロポレーション方にて遺伝子導入を行い、相同組換え体クローンを得た。得られたクローンをC57BL/6Jマウスのプラストシストへ注入し、仮親子宮へ移植、キメラマウスを得た。得られたキメラマウスと野生型マウスを交配したところ、相同組換え体クローン由来のES細胞の生殖細胞系列移行が確認出来た為、F1個体同士の交配によりRassf1c遺伝子ノックアウト(KO)マウス系統を樹立した。生まれてきたRassf1c KOマウスは正常に出産し、生殖能にも異常は見られなかった。しかしながら、8週齢以降において徐々に成長遅延を呈し、高齢マウスにおいては体長・体重の明確な低下が観察された。そこで各臓器を摘出し、湿重量を計測したところ、ほぼ全ての臓器が野生型と比較して小さくなっている事が明らかとなった。

**4. 考察 まとめ**

Rassf1タンパク質は選択的スプライシングによる複数のアイソフォームが存在し、このうちRassf1AとRassf1Cとが主に存在する事が知られている。様々な腫瘍細胞においてRassf1A遺伝子発現が抑制されていることから、Rassf1A遺伝子はがん抑制遺伝子として研究されてき

ている。しかしながらRassf1A KOマウスは期待されるような表現型を示さないことから、実際の生理機能については不明であった。今回Rassf1C KOマウスの解析により、Rassf1C遺伝子が生体において重要な役割を担っている事が示唆される結果が得られた事から、より詳細な解析を進める予定である。また、Rassf1AとRassf1Cの機能の差異に関してより明確に調べる目的で、現在Rassf1A/CダブルKOマウスを新たに作出中であり、既に生殖細胞系への移行を確認している。

#### 5. 発表論文、参考文献

- 1) Inose H. et al., A novel microRNA regulatory mechanism of osteoblast differentiation. *Proc Natl Acad Sci USA*. in press
- 2) Mizoguchi F. et al., Osteoclast-specific Dicer gene deficiency suppresses osteoclastic bone resorption. *J Cell Biochem*, in press
- 3) Iwasawa M. et al., The antiapoptotic protein Bcl-xL negatively regulates the bone-resorbing activity of osteoclasts in mice. *J Clin Invest*, 119(10): 3149-59, 2009
- 4) Ohata S. et al., Hematopoiesis-dependent expression of CD44 in murine hepatic progenitor cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 379(4):817-23, 2009