

ヒト皮膚線維芽細胞における I 型コラーゲン遺伝子の 個人依存性発現制御機構

畑 隆 一 郎

神奈川歯科大学 歯学部口腔生化学

我々は先に I 型コラーゲン 2 鎖 (COL1A2) 遺伝子の転写性制御領域である遺伝子上流及び第一イントロンに 2 つの反復配列を見出し、この反復配列の組み合わせにより、COL1A2 遺伝子の転写活性が制御されていること、及び、高い転写促進活性を示す反復配列の組み合わせ (ハプロタイプ) が全身に I 型コラーゲンが異常に蓄積する疾患である強皮症に対する感受性に関与していることを報告した。本研究ではこの転写制御機構を明らかにするために各種コンストラクトのトポアイソマーを二次元電気泳動法で分離し、転写制御領域の高次構造、特に右巻きの B 型構造から左巻きの Z 型ラセンへの転移を解析した。

【結果および考察】

最近 DNA の高次構造が DNA の一次構造 (塩基配列) と同様に生物情報を持っていることが明らかになってきた。我々は先に COL1A2 遺伝子上流と第一イントロンに二つの 2 塩基反復配列が存在し、この二つの反復配列の組み合わせにより COL1A2 遺伝子の転写活性が促進されること、及びこの配列の組み合わせのうち (13,6,8) -12 の組み合わせをホモに持つものは I 型コラーゲン遺伝子の転写活性が促進されている強皮症患者ゲノムにのみ存在し、対照の正常な個体由来のゲノムでは存在しないことを報告した。そこでこれらの反復配列による COL1A2 遺伝子の転写促進機構を明らかにするために二つの反復配列の高次構造を解析した。上流反復配列、イントロン反復配列の両者が塩基配列からは Z 型構造を取りうるということが推定されたが、今回の結果は転写開始点上流のみに左巻きラセンの Z 型構造をとった領域が存在することが明らかになった。Z 型構造の存在量は上流反復配列の長さに比例することから、反復配列部分が Z 型構造をとっていると思われる。B 型ラセンから Z 型ラセンへの転移においては超ラセン密度の減少を伴い、これは 2 次元電気泳動の 1 次元目におけるトポアイソマーの泳動距離の負への変化によって示される。B 型ラセンから十字架型構造へ的高次構造の変化によっても超ラセン密度の減少を伴う。上流反復配列は CG 反復配列を含むので十字架型構造を取りうる。十字架型構造を取った時の超ラセンのリラクゼーションの総量は $i / 10.4(i$ は C G 反復配列の長さ) で示される。(19,7,8) -12 の反復配列を持つコンストラクトの上流反復配列が十字架型を取るとすると超ラセンのリラクゼーションの総量は C G 反復配列を構成する塩基が $2 \times 7 = 14$ なので $1.35(14/10.4)$ となる。一方、上流反復配列のみが B 型ラセンから Z 型ラセンへの転移に起こす際の超ラセンのリラクゼーションの総量は $13.28(74/10.4 + 74/12)$ 、74 は上流反復配列の総塩基数) である。後者の値は 2 次元電気泳動による超ラセンのリラクゼーションの実測値 $13(40-27)$ と一致する。この結果から、用いたコンストラクトは上流反復配列が B 型ラセンから Z 型ラセンへの転移を起こした

ことを支持している。さらに本研究で用いた反復数の異なるコンストラクトの電気泳動における泳動距離の負へのシフトはトポアイソマー番号 27 で起こっており、この値から B 型ラセンから Z 型ラセンへの転移における超ラセン密度はおよそ $-0.036(-10.4Y/Z)$ 、4 つのコンストラクトでそれぞれ、27/7742,27/7736,27/7732,27/7740)と算出され、これは過去の反復配列による値と一致する。以上の結果は用いたコンストラクトは上流反復配列のみが Z 型構造を取っていることを示す。しかし、本研究の結果で測定した Z 型構造の存在量と転写促進活性は単純な比例関係を示さないため、COLIA2 遺伝子の反復配列による転写促進活性を制御する因子は DNA の Z 型構造以外にも存在することが示された。これら結果は遺伝子の転写促進において現在の知見では説明できない新しい制御機構の存在を示唆しており、COLIA2 遺伝子の研究はこの転写制御の分子機構の研究に好個の材料となるばかりでなく、遺伝子の転写制御と疾患感受性の解明に重要であると考えられる。