

こ と ば

GRO-seq (global run-on sequencing): GRO-seqとは、John Lisらによって開発された、新生RNA鎖を高解像かつゲノムワイドに解析する手法である。この手法では、培養細胞から核を単離し、BrUTP (5-bromo-UTP) を基質としてrun-on反応を行うことで新生RNAを標識し、抗BrUTP抗体を用いて精製する。高速シーケンサーを用いて、精製された新生RNAをシーケンス解析することで、転写中のRNAポリメラーゼがまさに合成しているRNAの情報を、ゲノムワイドに数十塩基レベルの高解像度で解析することができる。

(鈴木秀文, 高橋秀尚 横浜市立大学)

PRO-seq (precision nuclear run-on sequencing): PRO-seqはGRO-seqの改良版として開発された手法である。PRO-seqでは、4種類のピオチン標識NTP (ATP, CTP, GTP, UTP) を基質としてrun-on反応を行う。RNAポリメラーゼはピオチン標識NTPを1~2塩基取り込むと伸長できなくなるため、ピオチン標識された新生RNAを精製し、シーケンス解析を行うことで、細胞内における転写伸長中のRNAポリメラーゼのゲノム上の位置を1塩基レベルで正確に同定することができる。PRO-seqは、転写伸長活性を有しているゲノム上のRNAポリメラーゼのみを高解像度で検出するため、PRO-seqの登場により、転写開始点や転写終結点の近傍で起こるRNAポリメラーゼの一時停止の位置をゲノムワイドに正確に解析することが可能となった。

(鈴木秀文, 高橋秀尚 横浜市立大学)

脱ユビキチン化酵素 (deubiquitinase): ユビキチンと基質との間のイソペプチド結合やペプチド結合を加水分解するプロテアーゼ。約100種類が報告されており、酵素活性ドメインの構造が異なる七つのファミリーから構成され、そのうち六つはシステインプロテアーゼ、一つはメタロプロテアーゼに分類される。特定の結合型のユビキチン鎖を切断するもの、結合型に選択性を持たないもの、といった基質特異性の違いの他、発現時期、局在、活性制御機構などが異なっているため、それぞれが異なる標的のユビキチン修飾を除去する。多様なユビキチン修飾の負の制御因子として機能することで、タンパク質の安定化、シグナルの抑制、膜輸送や細胞周期の制御など多くの細胞機能に関わり、創薬標的としても近年注目されている。

(佐藤裕介 鳥取大学)

ゼノファジー (xenophagy): 細胞内の有害物を選択的にオートファゴソームで隔離し排除する選択的オートファジーの一種。ゼノファジーは外来の細菌やウイルスなどを標的とする。ウイルスのゼノファジーはしばしばvirophagyとして区分される。細胞内に侵入した細菌が宿主由来エンドソーム膜を破壊し細胞質にさらされると、宿主内膜タンパク質や細菌由来のLPSなどがユビキチン化される。それが各種オートファジー関連タンパク質を呼び込み、オートファゴソーム膜が形成される。広範な種類の細菌やウイルスがゼノファジーにより排除される一方、ゼノファジーの機能を阻害、さらにはその機構をハイジャックして利用するものも存在する。

(川端 剛 長崎大学)

姉妹染色分体交換 (sister chromatid exchange : SCE): 培養細胞をプロモデオキシウリジン (BrdU) 存在下に2細胞周期に相当する期間維持すると、BrdU取り込み量によってM期染色体の2本の姉妹染色分体を染め分けることが可能であり、その連続性が途切れて互いに入れ替わる(交換)現象(SCE)が観察できる。SCEは、「相同組換え」によって形成されるホリデイ構造の開裂に伴う交叉(クロスオーバー)現象を可視化しており、DNA損傷数、相同組換え活性、DNA修復経路選択などの影響を受ける。ブルーム症候群では、ホリデイ構造開裂を交叉なしに実行する活性が低下し、SCE頻度が顕著に上昇する。我々が最近報告したアルデヒド代謝酵素欠損症では、DNA損傷頻度の上昇によりphytohemagglutinin (PHA) 刺激リンパ球におけるSCEが高頻度となる。

(高田 穰 京都大学)

フェロトーシス (ferroptosis): ネクローシスは古典的にはプログラムされていない受動的な細胞死と定義されてきたが、形態学分類上のネクローシスの中にも“制御された細胞死”が含まれることが判明している。フェロトーシス(鉄依存性細胞死)は制御性ネクローシスの一種であり、2012年にあらたな細胞死として報告され、Nomenclature Committee on Cell Death 2018にてプログラム細胞死の一つとして認定された。フェロトーシスは鉄イオンに依存した過酸化脂質の蓄積により引き起こされ、原因の一つとしてグルタチオンペルオキシダーゼ4 (GPX4) 経路の制御異常が知られる。また、神経変性疾患や脳卒中などさまざまな疾患への関与も報告されている。

(宮崎拓郎 昭和大学)