

# DNA依存性プロテインキナーゼ

## ——複製・転写制御に直接関与するキナーゼか？——

飯島成幸・寺岡弘文

DNA 依存性プロテインキナーゼ (DNA-PK) は、分子量約 300 K の単一ポリペプチド鎖からなり、弛緩型の 2 本鎖 DNA によって活性化される特異なセリン・スレオニンキナーゼである。p53, Sp1, SV40 T 抗原, c-Myc, TFIID などの複製・転写制御因子や、複製・転写系酵素である DNA リガーゼ I, RNA ポリメラーゼ II, トポイソメラーゼ I, II などが DNA-PK の *in vitro* における基質となることが次々と明らかになっている。DNA-PK が細胞核において、遺伝子複製や転写のリン酸化による制御に直接関与している可能性がうかがえる。

はじめに 細胞外からのシグナルが細胞核にまで伝達され、最終的には特定の遺伝子の発現が制御されることによって、細胞の多彩な機能が発揮される。近年、転写制御因子のリン酸化による機能調節が次々と明らかになり、細胞核ではたらくプロテインキナーゼが脚光を浴びてきている。筆者らも細胞核のプロテインキナーゼに興味をもって研究をはじめ、数年前には、複製・転写の場である核マトリックスにプロテインチロシンキナーゼ活性を当時初めて見いだした<sup>1,2)</sup>。その後、2 本鎖 DNA 依存性の蛋白質リン酸化に興味をもち、Raji 細胞から DNA 依存性プロテインキナーゼ(DNA-PK)の精製中に、58K の内在性蛋白質の DNA に依存したリン酸化を認め、これが c-Myc であることを明らかにした<sup>3)</sup>。2 本鎖 DNA 依存性のプロテインキナーゼ活性は、はじめ HeLa 細胞抽出液中、熱ショック蛋白質 hsp 90 を DNA に依存して高度にリン酸化する活性として見いだされた<sup>4)</sup>。しかし、その酵素の実体については長らく不明であったが、1990 年に HeLa 細胞からほぼ単一にまで精製されるに及んで、ようやくその実体が明らかになってきた<sup>5,6)</sup>。

弛緩型の 2 本鎖 DNA によって特異的に活性化され

る DNA-PK に関して、筆者らの最近の知見をまじえて以下に概説したい。

### I. 性質と特徴

DNA-PK は、その活性が高い HeLa や Raji 細胞から筆者らを含めて 3 つのグループによって精製されているが<sup>3,5,6)</sup>、HeLa 細胞から蛋白質レベルではほぼ純化された精製結果<sup>3)</sup>を表 1 に示した。DNA-PK はゲル濾過および SDS-PAGE で分子量およそ 300 K を示す単一ポリペプチド鎖からなるセリン/スレオニン型のプロテインキナーゼである。リン酸供与体としては ATP あるいは dATP を要求し、GTP は十分な供与体とならない。また、カゼインキナーゼ II (CK II) や *cdc 2* キナーゼとは異なり、150 mM 以上の NaCl では著しく阻害される。表 2 に阻害剤を含め、DNA-PK の性質をまとめて示した。高度に精製された DNA-PK 標品を自己リン酸化すると 300 K の単一バンドがオートラジオグラフィーで検出され<sup>3,5,6)</sup>、自己リン酸化によってその活性は抑制される<sup>6)</sup>。Carter ら<sup>3)</sup>は、300 K のポリペプチド鎖に特異的

Shigeyuki Iijima\*, Hirobumi Teraoka, 東京医科歯科大学難治疾患研究所 (〒101 東京都千代田区神田駿河台 2-3-10) [Medical Research Institute, Tokyo Medical and Dental University, Kandasurugadai, Chiyoda-ku, Tokyo 101, Japan]

\* 現所属 (株)東京免疫薬理研究所

DNA-activated Protein Kinase

[Key word] 【プロテインキナーゼ】【複製・転写因子】【リン酸化カスケード】

表 1. HeLa 細胞由来 DNA-PK の精製<sup>a)</sup>

精製ステップ	全活性 <sup>a)</sup> (kU)	DNA に よる活性 比率(倍)	全蛋白質 (mg)	比活性 (kU/mg)
全細胞抽出液	294.3	1.5	2257.50	0.39
細胞質 S-100	943.1	6.7	524.28	2.16
核抽出液	1046.0	3.8	932.20	1.52
DEAE セファセル	1602.0	46.5	136.00	12.04
ホスホセルロース	620.1	20.4	12.31	59.97
セファクリル S-300	150.5	23.6	1.80	87.30
活性化レッドアガロース	104.6	11.6	1.07	107.35
DNA セルロース	68.6	19.8	0.66	109.48
MonoQ	41.5	33.9	0.35	122.92

a) 超音波処理した 50 $\mu$ g/ml サケ DNA 存在下での活性から DNA 非存在下での値を減じた活性。1U はカゼインを基質として 37°C, 1分間に, 1pmol の <sup>32</sup>P を取り込む活性として定義。

なモノクローナル抗体を作製し, この抗体が DNA-PK 活性を部分的に阻害すること, 免疫組織化学的にこの 300 K の蛋白質が核に局在していることを示した。筆者らも Raji 細胞において, DNA-PK 活性および 300 K の蛋白質が細胞質画分に対して核で数十倍に濃縮されていることを認めている<sup>9)</sup>。

活性化因子としては弛緩型の 2本鎖 DNA を特異的に要求し, 数  $\mu$ g/ml の濃度で最大活性を示し, 500  $\mu$ g/ml でも阻害は認められない(表 3 参照)。また, その要求されるサイズも 12mer の合成オリゴヌクレオチドから数 kb 以上と幅広く, 2本鎖ホモポリマーでも充分な活性化が認められる。DNA-PK は 1本鎖 DNA にも結合するが, 活性に対してはむしろ阻害的に働き, RNA は無効である。2本鎖 DNA と直接相互作用のない hsp 90 やカゼインが DNA-PK の比較的効率のよい基質であることから, DNA-PK と 2本鎖 DNA の直接的結合が活性化における必要十分条件であろう。事実, DNA-PK と DNA の直接的結合は, UV 架橋<sup>10)</sup>, ゲルソフトおよび DNA の添加による熱失活の亢進<sup>11)</sup>によって明らかになっている。活性化における塩基配列特異性

表 3. DNA-PK による c-Myc とカゼインのリン酸化に対する各種ポリヌクレオチドの効果

ポリヌクレオチド	濃度 ( $\mu$ g/ml)	鎖長 (塩基数)	活性化率 (倍)
1. c-Myc のリン酸化 <sup>a)</sup>			
無添加	0	—	(1)
仔ウシ胸腺 DNA	0.4	~1000	6
	0.8	~1000	16
	5	~1000	24
	25	~1000	25
	500	~1000	23
pUC119 (直鎖状) <sup>a)</sup>	25	3162	18
ク (弛緩型) <sup>b)</sup>	25	3162	20
ク (超らせん型)	25	3162	5
M13mp18 (1本鎖)	20	7249	2
ポリ (dA)	20	~ 100	0.6
ポリ (dC)	20	~ 100	0.5
酵母 RNA	20		1
myc(H-P) コア <sup>c)</sup>	1	16	10
CM-1 <sup>d)</sup>	1	21	9
2. カゼインのリン酸化 <sup>a)</sup>			
無添加	0	—	(1)
サケ精子 DNA	100	~ 300	29
ポリ (dI-dC)	100	>30	16
ポリ (dA-dT)	100	>30	13
ポリ (dG) ポリ (dC)	100	>30	7
ポリ (rI) ポリ (rC)	100	>30	0.6
ポリ (rG) ポリ (dC)	100	>30	0

a) BamHI 処理, b) トポイソメラーゼ I 処理。

c) 5'-GATCCTCTCTTATGCG-3'  
3'-GAGAGAATACGCCTAG-5'

d) 5'-CCCCACCCACGTGGTGCCTGA-3'  
3'-GGGGGTGGTGCACCCACGGACT-5'

[c, d のオリゴヌクレオチドは有賀芳氏 (北大・薬) よりご供与いただいた<sup>9)</sup>。]

については, 転写制御因子の 1つである Sp1 のリン酸化の際に, そのシスエレメントである GCボックスに特異的に依存するという報告があるが<sup>12)</sup>, それ以外は特別な配列を必要とする報告はない。

表 2. DNA-PK の性質

特 徴	内 容
分 子 量	300~350K
活 性 化 因 子	弛緩型 2本鎖 DNA
細 胞 内 局 在	細胞核
主要なリン酸化部位	X-Ser/Thr-Gln
阻 害 剤 (ID <sub>50</sub> )	N-エチルマレイミド (0.7mM), ヘパリン (1 $\mu$ g/ml), スベルミン (1mM), 2-アミノプリン (4mM), 無機正リン酸 (20mM), ピロリン酸 (3mM), ADP, AMP (>33 $\mu$ M), NaCl, KCl (~150mM)
リン酸化基質	hsp90, SV40 T抗原, p53, Sp1, c-Myc, c-Fos, c-Jun, Oct-1 および 2, TFIIID, 血清応答因子 (SRF), ヒト Ku 抗原, プログステロンレセプター, ヒストン H2A, RB G-ペプチド, RNA ポリメラーゼ II 最大サブユニット, DNA リガーゼ I, DNA トポイソメラーゼ I および II

## II. リン酸化基質

### 1. hsp90, SV40 T 抗原, p53

DNA-PK の *in vitro* の基質として hsp 90 が最初に同定された<sup>4)</sup>。筆者らも Raji 細胞の粗抽出液中に DNA に依存してリン酸化される 90 K の内在性蛋白質を認め、細胞質局在性からこれが hsp 90 であろうと推定している<sup>5)</sup>。ヒトでは 97% の相同性を有する hsp 90 $\alpha$  と hsp 90 $\beta$  の 2 種の分子種が存在し、DNA-PK のリン酸化基質である hsp 90 $\alpha$  の N 末端には、 $\beta$  には存在しない 2 つのスレオニン残基 (-Glu-Thr-Gln-Thr-Gln-Asp-) が存在し、これらが DNA-PK の標的となる<sup>6)</sup>。この -Glu-Thr-Gln-, -Gln-Thr-Gln-(D/E/Q-S/T-Q 則) の配列をもとに、同一または類似の配列をもつ蛋白質が検索され、SV40 T 抗原、マウス p 53、ヒト Ku 自己抗原 80 K サブユニットなどに、この種の配列が認められた。実際、*in vitro* でこれらの蛋白質が DNA-PK の基質となりうることを示されている<sup>6)</sup>。とくに SV 40 T 抗原と p 53 に関してはリン酸化部位が同定されており、そのいくつかは *in vivo* でのリン酸化部位に一致する(図 2 参照)。

### 2. Sp1

SV 40 でトランスホームした CV-1 細胞では Sp 1 のリン酸化が亢進する。Sp 1 のリン酸化と非リン酸化型は、SDS-PAGE での移動度により明確に区別することができる。DNA-PK による Sp 1 のリン酸化は SDS-PAGE での移動度をシフトさせ、これは Sp 1 の *in vitro* 転写系のみならず観察される変化と類似している<sup>7)</sup>。Sp 1 はその N 末端側にグルタミンが豊富な領域を含み、このなかに DNA-PK の共通配列が含まれる。このリン酸化には、Sp 1 の G/C に富むエンハンサー配列への結合が必須であり、その結合とリン酸化は共役している。しかし、DNA-PK が実際に N 末端に存在する共通配列を認識しているという直接的な証明はなされていない。また、リン酸化型と非リン酸化型 Sp 1 の DNA 結合能および転写活性には差が見られない。

### 3. c-Myc

筆者らは Raji 細胞から DNA-PK の精製途中に、SDS-PAGE 後のオートラジオグラフィーで 300 K の自己リン酸化バンド以外に、DNA によって著しくリン酸化の亢進する内在性の 58 K 蛋白質を認め、この蛋白質

が癌原遺伝子産物の 1 つである c-Myc 蛋白質であることを抗体を用いて明らかにした<sup>8)</sup>。大腸菌で発現させた c-Myc をリン酸化させたところ、5~6カ所のセリン残基が特異的にリン酸化を受けていた。このリン酸化反応において DNA の特異性を調べた結果、活性化には弛緩型の 2 本鎖 DNA が要求され、超らせん型のプラスミドをトポイソメラーゼ I 処理して弛緩型に変えると活性化能が高まり、末端やニックも必要としない(表 3)。興味深いことに、c-Myc には D/E/Q-S/T-Q 則に一致する配列は存在しない。c-Myc の N 末端側には *cdc 2* キナーゼと MAP キナーゼの認識部位(-Pro-Leu-Ser<sup>62</sup>-Pro-Ser-Arg-) が存在し、また中央部に位置する酸性領域と C 末端側のセリン/スレオニンクラスターは CK II によってリン酸化を受けることが知られている(図 2 参照)。筆者らは、これらの部位を含む合成ペプチドならびに変異蛋白質を用いて *cdc 2* キナーゼと CK II の認識部位を DNA-PK がリン酸化できるかどうかを調べた。CK II の酸性領域を欠失させた変異 c-Myc の二次元ホスホペプチドマップと正常のそれとは相同なパターンを示し、また DNA-PK によっては、CK II の上記 2 領域の認識部位を含むペプチドはまったくリン酸化を受けなかった。一方、*cdc 2* キナーゼのモチーフを含む 2 つの N-Myc のペプチドのうち、1 つ(A ペプチド)については完全に DNA に依存したリン酸化が認められた<sup>9)</sup>(図 1a)。しかし用いたペプチド中には他の Thr<sup>58</sup> および Ser<sup>64</sup> が含まれており、DNA-PK が Ser<sup>62</sup> を認識しているかどうかについてはさらに検討が必要である。

### 4. 複製・転写酵素系

哺乳動物細胞には、複製用の DNA リガーゼ I と、修復や組換え用と考えられる DNA リガーゼ II と III が存在する。筆者らは、活性をもったヒト DNA リガーゼ I を大腸菌で発現させることに成功し<sup>10)</sup>、これを DNA-PK でリン酸化させたところ、DNA に依存して効率よくリン酸化されることが明らかとなった(図 1b)。また、CK II や *cdc 2* キナーゼも DNA リガーゼ I を効率よくリン酸化したが、DNA-PK とは異なり高濃度の DNA は CK II に対して阻害的で、*cdc 2* キナーゼにはほとんど影響がなかった。最近、DNA リガーゼ I 活性がリン酸化によって調節を受け、CK II がその中心的役割を担っているとの報告もあるが<sup>11)</sup>、これは DNA-PK を含め、他のキナーゼの関与を否定するものではなく、この点については現在も追究中である。また、トポイソメラーゼ I と II については DNA-PK の基質となると

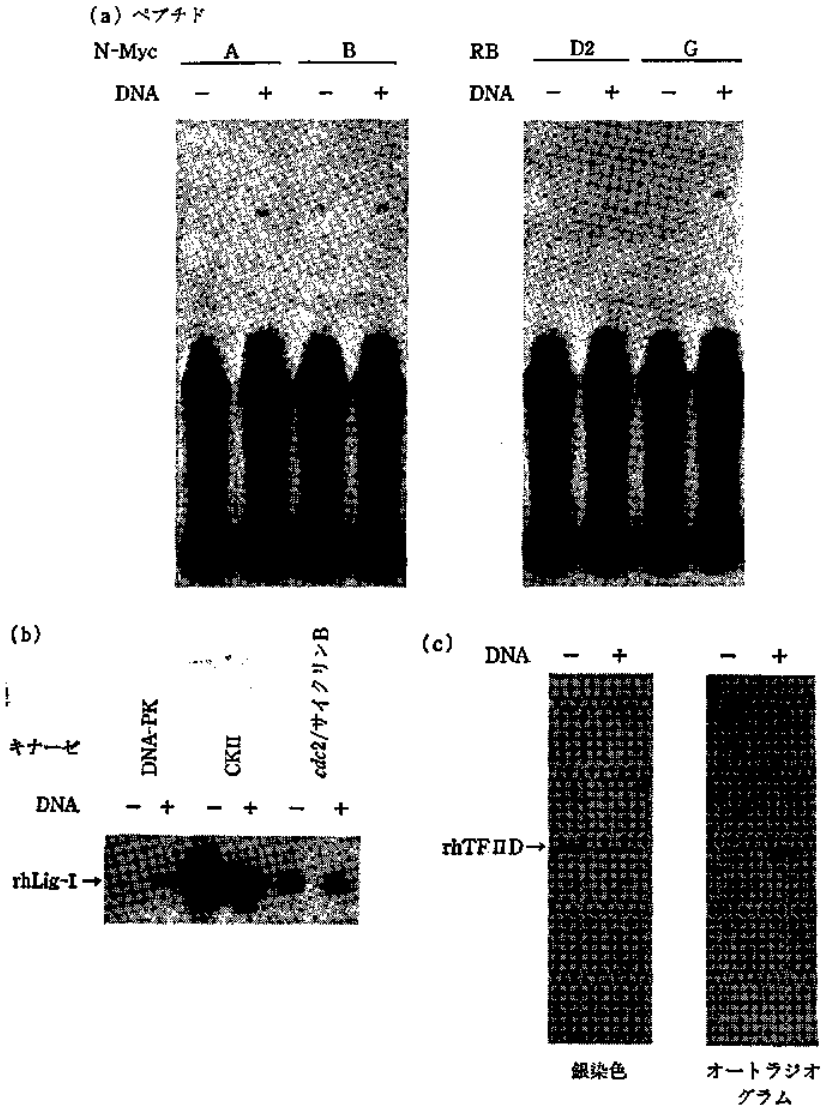


図 1. DNA-PK による細胞核内蛋白質 (ペプチド) のリン酸化

仔ウソ胸腺 DNA (50 $\mu$ g/ml) の存在下 (+), 非存在下 (-) にリン酸化したのち, 薄層クロマトグラフィー (a) または SDS-PAGE (b, c) で分離し, オートラジオグラフィーを行なった。(a) *cdc2* キナーゼの認識配列 (SPXK/R) を含む Myc と RB のペプチドのリン酸化。A; マウス N-Myc: ELLPTPPLSPSRAPPE, B; ヒト N-Myc: ELLPTPPLSPSRGFAE, D2; RB: ADMYLSPVRSPPK, G; RB: RPPTLSPIPHIPR, (b) DNA-PK, CKII, *cdc2* キナーゼによる組換えヒト DNA リガーゼ I (rhLig-I) のリン酸化に対する過剰の DNA (250  $\mu$ g/ml) の効果, (c) 組換えヒト TFIID (rhTFIID) のリン酸化。

の報告があるが, DNA の修復や組換えに関与している DNA ポリメラーゼ  $\beta$  の DNA-PK によるリン酸化は認められなかった<sup>12)</sup>。

DNA-PK が, RNA ポリメラーゼ II の最大サブユニットの C 末端に存在するくり返し配列 (-Tyr-Ser-Pro-Thr-Ser-Pro-Ser-) をリン酸化する, いわゆる CTD

キナーゼの 1 つである可能性も示されている<sup>13)</sup>。すでに CTD キナーゼの候補として *cdc2* キナーゼ, TFIID<sup>14)</sup>をはじめ, いくつかの酵素が報告されていることから, 前述の c-Myc のペプチド同様, 癌抑制遺伝子産物の 1 つである RB 蛋白質の, *cdc2* キナーゼのモチーフを含むペプチドの DNA-PK によるリン酸化を調べた。

*cdc 2* キナーゼの基質となる D2 ペプチドはまったくリン酸化を受けず基質とはならないが、モチーフ様の配列をもつ G(RPPTLSPIPHIPR)<sup>15)</sup> を DNA に依存してリン酸化した (図 1a)。現在では、DNA-PK の認識配列は D/E/Q-S/T-Q 則では説明しきれない状況になっている。

さらに、RNA ポリメラーゼ II の基本転写因子の 1 つである TFII D が DNA-PK によって酸化されることを見いだした (図 1c)<sup>9)</sup>。他の基本転写因子については、TFII E や F のリン酸化が示唆されているが、TFII F 74 K サブユニットでは DNA 依存性のリン酸化は認められず、30 K サブユニットで DNA に依存したリン酸化がわずかに認められた。TFII D のリン酸化の生理的な意義についてはさらに追究中である。

その他、c-Jun, c-Fos, 血清応答因子 (SRF), プロゲステロンレセプターなども DNA-PK の *in vitro* の基質として報告されているが (表 2), リン酸化部位や機能調節機構など、詳細は不明である。

### III. リン酸化の生理的意義

DNA-PK は *in vitro* で多くの複製・転写因子や制御因子をリン酸化するが、*in vivo* においてもそれらの機能を調節しているのであろうか。この酵素の細胞核局在性、弛緩型の 2 本鎖 DNA 要求性、ならびに基質となりうる核内蛋白質の機能などから、DNA-PK が細胞内情報伝達系のリン酸化カスケードの最終段階で機能し、複製や転写制御に直接関与している可能性は充分考えられる。しかし、これを直接的に証明するような事実は現在に至るまでない。DNA-PK が *in vivo* で実際に機能している可能性を示唆するものとして、アフリカツメガエル卵母細胞に DNA を注入すると内在性の 15 K の蛋白質がリン酸化されることが述べられている<sup>9)</sup>。

少なくとも *in vivo* と *in vitro* のリン酸化部位が一致する例として p53 が報告されている<sup>16,17)</sup>。マウス p53 では C 末端側に *cdc 2* キナーゼ (Ser<sup>125</sup>) および CK II (Ser<sup>399</sup>) によるリン酸化部位が報告されているが、*in vivo* でリン酸化される N 末端側の 7, 9, 18, 37 番目のセリン残基のうち、DNA-PK は少なくとも Ser<sup>18</sup> を、CKI は Ser<sup>9</sup> をリン酸化する (図 2)。さらにこれらの部位は転写調節領域内に存在し、プロテインホスファターゼ 2A で脱リン酸化されることから、DNA-PK が p53 の転写活性を調節している可能性が考えられる。p53 のリン酸化については、S 期の細胞やトランスホ

ーム細胞においてそのレベルが高いことが報告されている。癌抑制遺伝子産物である RB 蛋白質に関しては、リン酸化による標的蛋白質の機能抑制の解除が知られているが、p53 が類似の調節を受けるかどうかについても興味深い。

DNA-PK によるリン酸化部位が固定されている基質として、ほかに SV 40 T 抗原が知られている<sup>18)</sup>。SV 40 T 抗原は SV 40 DNA の複製起点近傍にある 2 つの部位に結合するが、部位 I への結合は初期プロモーターからの転写を抑制し、ウイルス DNA の複製を増加させる。部位 II への結合は SV 40 DNA 複製の初期段階に生ずる。SV 40 T 抗原の複製起点への結合は、リン酸化によって調節を受けていることが数多く報告されており、そのいくつかの部位については T 抗原の機能との関係が予想されている<sup>19)</sup>。*in vivo* でリン酸化される T 抗原の 6 カ所のセリン残基のうち、DNA-PK は N 末端側の少なくとも 1 カ所と C 末端側の 3 カ所のセリン残基を特異的にリン酸化する (図 2)<sup>19)</sup>。このうち、とくに 677 番目のセリンを強くリン酸化するが、この部位は部位 I と T 抗原との相互作用とトランスホームに重要であることが知られており、DNA-PK が T 抗原の機能を調節している可能性が提唱されている。Ser<sup>677</sup> の機能調節との関連においては、この部位に保存的変異 (Ser→Ala) を導入した場合、他の部位への変異の導入に比べて特異的に Rat 2 細胞のフォーカス形成能をいちじるしく阻害し、また部位 I への結合能を失わせることが知られている。また、Ser<sup>677</sup> が前もってリン酸化を受けることが、Ser<sup>120</sup> と Ser<sup>123</sup> が新たにリン酸化を受けるために必要であるとの報告もなされている (Ser<sup>120</sup> と Ser<sup>123</sup> のリン酸化は部位 II への結合を阻害する)。T 抗原の主要なリン酸化部位が DNA と直接相互作用しない部分に局在している事実から、おそらくリン酸化によるコンホメーションの変化が T 抗原の機能の調節に重要であろうと推定されている。

c-Myc は、CK II によって中央部の酸性領域と C 末端側の 2 カ所のセリン残基がリン酸化され、*in vivo* と *in vitro* のホスホペプチドマップの結果がかなり一致することが知られており、N 末端側の Ser<sup>62</sup> は *cdc 2* キナーゼと MAP キナーゼによって認識される (図 2)。筆者らの見いだした DNA-PK による c-Myc のリン酸化においても、5~6 カ所のセリン残基がリン酸化されるが、その部位に関する確証はない。c-Myc の DNA 複製や標的遺伝子の転写への関与を考えるうえでリン酸化による機能調節は興味深い。これまでのところ組換え

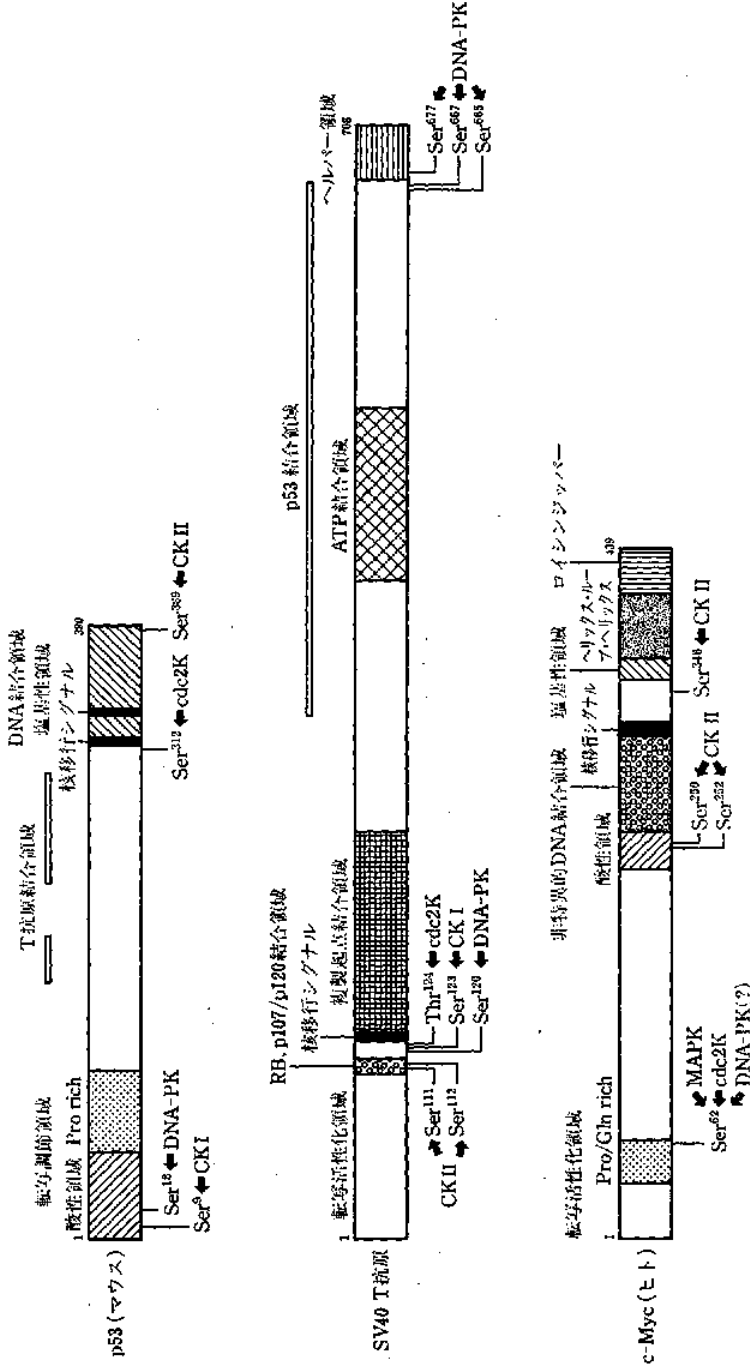


図2. マウス p53 と SV40 T 抗原, ヒト c-Myc のリン酸化部位  
*in vivo* でのリン酸化と, *in vitro* での特定のプロテインキナーゼによるリン酸化が判明しているセリン (スレオニン) を示した。DNA-PK : DNA 依存性プロテインキナーゼ, CK I : カゼインキナーゼ I, CK II : カゼインキナーゼ II, cdc2K : cdc2 キナーゼ, MAPK : MAP キナーゼ。

c-Myc を単独で用いたかぎり、特異 DNA 配列結合能自体低く、リン酸化による差は認められていない。また、c-Myc の特異結合配列によってリン酸化がとくに有効に亢進するという現象も認められなかった(表1参照)。少なくとも、cdc2 キナーゼや MAP キナーゼ(あるいは DNA-PK?) の認識する 62 番目のセリンのリン酸化がレポーター遺伝子の転写を活性化することが、GAL4 の DNA 結合領域と c-Myc の N 末端側との融合蛋白質を用いた系で証明されている<sup>20)</sup>。

#### IV. DNA-PK の調節

DNA-PK の特徴から、DNA 複製や転写への関与をはじめ、組換えや修復への関連もうかがえるが、まず細胞増殖や DNA 複製に焦点をあて、酵素活性レベルとの関連に注目した。Raji などのリンパ系細胞を 1.5% DMSO で処理することによって可逆的に G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 期に停止させることができる<sup>21-23)</sup>。この G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 期停止 Raji 細胞は対数増殖期の細胞に比べて DNA-PK 活性が数分の 1 に減少していることを認めている<sup>21)</sup>。細胞増殖との関係が示唆されたことから、DNA 合成誘導系であるラット再生肝を正常肝と比較したところ、再生肝においては、数種の内在性の蛋白質の DNA の添加によるリン酸化の亢進が比較的強いことが認められた。しかし、その活性は HeLa や Raji に比べていちじるしく低く、300 K の自己リン酸化バンドは検出できなかった<sup>24)</sup>。したがって、Raji や HeLa のようないわゆる癌細胞ではその活性が高いものと考えている。さらに予備的な結果ながら、Raji 細胞を S 期初期(アフィディコリン処理)と M 期(ノダゾール処理)に停止させて細胞周期との関連を検討したが、現時点では明確な活性の変動は認められていない。DNA-PK 活性は細胞増殖系の酵素が濃縮されているアフリカツメガエルやウニの卵でも高く、網状赤血球中にも存在する<sup>4)</sup>。

DNA-PK は、300 K という大分子量のポリペプチドからなるため、それ自体リン酸化を含む複雑な調節を受けている可能性もある。自己リン酸化による活性の減少は報告されているが<sup>25)</sup>、他のキナーゼやホスファターゼが関与したリン酸化・脱リン酸化による調節の可能性についても興味もたれる。

おわりに DNA-PK が情報伝達系のリン酸化カスケードの最終段階において機能している可能性は高いもの

と考えている。しかし、DNA-PK によるリン酸化の生理的意義、DNA-PK 自体の調節機構、DNA-PK の蛋白質・遺伝子構造、核に存在する他の重要なキナーゼ(CK II, cdc2 キナーゼ, MAP キナーゼ)との関係など、多くの課題が残されている。また、最近の話題として、HeLa 細胞核などに存在し、アデノウイルス E1A と結合する分子量 300 K のリン酸化蛋白質(p300)が注目されている<sup>26)</sup>。p300 はサイクリン A, RB あるいは p107 とは異なる E1A の N 末端領域に結合し、RB や p107 と共同した細胞のトランスホメーションへの関与が予測されている。DNA-PK が配列非依存的に DNA と結合するのに対し、p300 は特異的 DNA 配列(NF- $\kappa$ B 様の共通配列: GGGAGTG)にしか結合しないことから、両者は異なる蛋白質と考えられる。

ポリヌクレオチドによって活性化を受けるプロテインキナーゼとしては、DNA-PK 以外にも 2 本鎖 RNA 依存性プロテインキナーゼが知られており、またマウス脾臓細胞核由来の分子量 45 K のキナーゼ<sup>26)</sup>や cGMP 依存性キナーゼ<sup>27)</sup>が DNA によって活性化されるという報告もある。

HeLa 細胞から DNA-PK を精製した 2 グループの代表が DNA-PK に関する詳しい総説<sup>28)</sup>を発表しているので参照されたい。

#### 文 献

- 1) Ohmura, Y., Teraoka, H., Tsukada, K.: *FEBS Lett.*, **208**, 451-454 (1986)
- 2) Teraoka, H., Ohmura, Y., Tsukada, K.: *Biochem. Intern.*, **18**, 1203-1210 (1989)
- 3) Iijima, S., Teraoka, H., Date, T., Tsukada, K.: *Eur. J. Biochem.*, **206**, 595-603 (1992)
- 4) Walker, A. L., Hunt, T., Jackson, R. J., Anderson, C. W.: *EMBO J.*, **4**, 139-145 (1985)
- 5) Carter, T., Vancurova, I., Sun, L., Lou, W., DeLeon, S.: *Mol. Cell. Biol.*, **10**, 6460-6471 (1990)
- 6) Less-Miller, S. P., Chen, Y.-R., Anderson, C. W.: *Mol. Cell. Biol.*, **10**, 6472-6481 (1990)
- 7) Jackson, S. P., MacDonald, J. J., Less-Miller, S. P., Tjian, R.: *Cell*, **53**, 155-165 (1990)
- 8) Negishi, Y., Iguchi-Arigo, S. M. M., Ariga, H.: *Oncogene*, **7**, 543-548 (1992)
- 9) Iijima, S., Teraoka, H., Watanabe, F., Taya, Y., Tibazakura, T., Kitajima, S., Tsukada, K.: 投稿準備中
- 10) Teraka, H., Minami, H., Iijima, S., Tsukada, K., Koizumi, O., Date, T.: 投稿中
- 11) Prigent, C., Lasko, D. D., Kodama, K., Woodgett, J. R., Lindahl, T.: *EMBO J.*, **11**, 2925-

- 2933 (1992)
- 12) Date, T., Iijima, S., Teraoka, H.: 未発表データ
  - 13) Peterson, S. R., Dvir, A., Anderson, C. W., Dynan, W. S.: *Genes & Dev.*, **6**, 426-438 (1992)
  - 14) Lu, H., Zawel, L., Fisher, L., Egly, J.-M., Reinberg, D.: *Nature*, **358**, 641-645 (1992)
  - 15) Kitagawa, M., Saitoh, S., Ogino, H., Okabe, T., Matsumoto, H., Okuyama, A., Tamai, K., Ohba, Y., Yasuda, H., Nishimura, S., Taya, Y.: *Oncogene*, **7**, 1067-1074 (1992)
  - 16) Wang, Y., Eckhart, W.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **89**, 4231-4235 (1992)
  - 17) Less-Miller, S. P., Sakaguchi, K., Ullrich, S. J., Appella, E., Anderson, C. W.: *Mol. Cell. Biol.*, **12**, 5041-5049 (1992)
  - 18) Chen, Y., Less-Miller, S. P., Tegtmeyer, P., Anderson, C. W.: *J. Virol.*, **65**, 5131-5140 (1991)
  - 19) Schneider, J., Fanning, E.: *J. Virol.*, **62**, 1598-1605 (1988)
  - 20) Seth, A., Alvarez, E., Gupta, S., Davis, R. J.: *J. Biol. Chem.*, **266**, 23521-23524 (1991)
  - 21) Sawai, M., Takase, K., Teraoka, H., Tsukada, K.: *Exp. Cell. Res.*, **187**, 4-10 (1990)
  - 22) Teraoka, H., Sawai, M., Takase, K., Yamamoto, K., Nozaki, N., Okazaki, T., Tsukada, K.: *Exp. Cell. Res.*, **195**, 274-276 (1991)
  - 23) Takase, K., Sawai, M., Yamamoto, K., Yata, J., Takasaki, Y., Teraoka, H., Tsukada, K.: *Cell Growth Differ.*, **3**, 515-521 (1992)
  - 24) 飯島成幸・寺岡弘文・塚田欣司: 第 51 回日本癌学会総会記事, p.165 (1992)
  - 25) Rikitake, Y., Moran, E.: *Mol. Cell. Biol.*, **12**, 2826-2836 (1992)
  - 26) Otsuki, K., Yamada, E., Nakamura, M., Ishida, N.: *J. Biochem.*, **87**, 35-45 (1980)
  - 27) Hashimoto, E., Kuroda, Y., Ku, Y., Nishizuka, Y.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **87**, 200-206 (1979)
  - 28) Carter, T. H., Anderson, C. W.: *Prog. Mol. Subcell. Biol.*, **12**, 37-58 (1991)



● お 知 ら せ ●

**第 40 回 毒 素 シ ン ポ ジ ウ ム**

日 時: 1993 年 7 月 21 日 (水)~23 日 (金)  
場 所: 花びしホテル (函館市湯川町 1-16-18)  
世話人: 小熊惠二 (岡山大学医学部細菌学)

費 用: [2泊3日] 一般 30,000 円, 学生 25,000 円  
(含む参加費, 懇親会費)

予稿集代: 2,000 円

演題申込み: 発表申込みは, ①発表題目, 所属, 氏名(発表者に○), ②申込み者氏名, 連絡先, ③抄録(B5版 400字詰め原稿用紙2枚以内)を事務局までお送りください。

講演時間は20分を予定しております。

演題締切: 平成5年3月6日

※なお, 演者は本会員に限ります。入会申込みは下記の毒素シンポジウム事務局あてに手続きをお願いいたします。

(一般年会費: 3,000円, 学生年会費: 1,500円)

〒565 吹田市山田丘 3-1

大阪大学微生物病研究所 抗酸菌生理部門内

毒素シンポジウム事務局

(郵便振替 大阪 7-119232)

加入者: 毒素シンポジウム事務局)

問合せ先: 〒700 岡山市鹿田町 2-5-1

岡山大学医学部細菌学教室

第40回毒素シンポジウム事務局 担当・友近

Tel. 086-223-7151 ext. 2273