

様式3

群馬大学生体調節研究所内分泌・代謝学共同研究拠点共同研究報告書

平成27年 4月22日

群馬大学生体調節研究所長 殿

所属機関名 広島大学大学院理学研究科
数理分子生命理学専攻
職 名 教授
研究代表者 井出 博

下記のとおり平成26年度の共同研究成果を報告します。
記

(課題番号: 14028)

1. 共同研究課題名	DNA-蛋白架橋と複製ストレス応答			
2. 共同研究目的	DNA-蛋白架橋と複製ストレスが原因となる細胞の老化・がん化の関係を解明する			
3. 共同研究期間	平成 26 年 4 月 1 日 ~ 平成 27 年 3 月 30 日			
4. 共同研究組織				
氏 名	所属部局等	職名等	役割分担	
(研究代表者) 井出 博	広島大学大学院理学研究科	教授	DNA・蛋白架橋修復機構の解析	
(分担研究者) 中野敏彰	広島大学大学院理学研究科	助教	DNA・蛋白架橋による複製ストレスの解析	
5. 群馬大学生体調節研究所の共同研究担当教員	分野名	遺伝子情報	氏 名	山下孝之

※ 次の6, 7, 8の項目は、枠幅を自由に変更できます。但し、6, 7, 8の項目全体では1頁に収めて下さい。

6. 共同研究計画

DNA-蛋白クロスリンクによって生ずる複製ストレスに対する分子ネットワークを、損傷乗越え DNA ポリメラーゼの役割を中心に解明し、この細胞老化、発がんにおける役割を解明する。このために、DNA-蛋白クロスリンクが GFP 標識 DNA ポリメラーゼの細胞内局在におよぼす影響や、DNA 合成における因子を iPOND や DNA fiber 法を用いて解析する。また、これらの分子レベルでの事象と、細胞の老化やがん化という細胞レベルの現象の関係を明らかにする。

7. 共同研究の成果

- 1) ヒト MRC5SV 細胞における細胞毒性をコロニー形成法で調べた結果、アルデヒドの構造(鎖長, α, β 不飽和結合)に応じて 1000 倍程度異なることが分かった。
- 2) 10%生存率濃度で細胞を処理し、ゲノム DNA を単離精製後、蛍光標識法により DPC を定量した。ホルムアルデヒド及び α, β 不飽和アルデヒドでは、同程度の DPC が生成した。また、未処理の細胞でも有意な量の DPC の存在が認められたことから、脂質過酸化やアミノ酸の酸化的分解により細胞内で生成する内在性アルデヒドにより DPC が形成されることが示唆された。アルデヒド処理により生成した DPC は、半減期 5~8 時間で減少した。
- 3) ヌクレオチド除去修復(NER)はバルキーな DNA 損傷の修復に関わることから、NER 欠損細胞(XPA)をアルデヒドで処理し、DPC の除去速度を修復野生型細胞(MRC5SV)と比較したが、両者には差が無かった。このことから、NER は DPC 修復に関与しないことが示唆された。

8. 共同研究成果の学会発表・研究論文発表状況

(本研究所の担当教員の氏名の記載, 又はこの共同研究に基づくとの記載のある論文等を記載して下さい。なお, 論文の場合は, 別刷りを1部提出して下さい。)