

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

令和 3 年 4 月 20 日

群馬大学生体調節研究所長 殿

所属機関名 国立大学法人神戸大学
職 名 准教授
研究代表者 横井 雅幸

下記のとおり令和 2 年度の共同研究成果を報告します。

記

(課題番号: 20020)

1. 共同研究課題名	グアニン四重鎖構造に関連する複製ストレスにおける損傷乗り越え DNA 合成ポリメラーゼの役割			
2. 共同研究目的	グアニンに富む一本鎖 DNA が形成する高次構造グアニン四重鎖(G4)を取りうる配列はヒトゲノム中に 37 万以上あり、転写や複製などの制御に関与する。その異常はゲノム不安定性、がんなどの病態に密接に関連する。本共同研究では、発がんシグナルが誘導する G4 と複製ストレスにおける損傷乗り越え DNA ポリメラーゼの役割を解明する。この結果得られる知見は、がんや老化の仕組みに対する理解を深め、治療開発に貢献すると期待される。			
3. 共同研究期間	令和 2 年 4 月 1 日 ~ 令和 3 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)	横井 雅幸	バイオシグナル総合研究センター	准教授	研究計画の立案と実施、総括
(分担研究者)				
5. 群馬大学生体調節研究所の共同研究担当教員	分野名	生体膜機能分野		氏 名 関本隆志

※ 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

申請者らは、Y-family ポリメラーゼ (Y-Pol) を中心とする損傷乗り越え DNA 合成の分子機構を解明するために、各 Pol のシングル、ダブルあるいはトリプル・ノックアウトマウスを作成し、それらの細胞を用いて種々の化合物や紫外線が引き起こす複製ストレスに対する感受性や応答機構を研究してきた。一方、他の研究グループから、主に *in vitro* において G4 を含む DNA の複製に Y-Pol の関与を示唆する報告がある。関本博士らは、がん遺伝子 Myc の活性化が誘導する複製ストレス応答に Y-Pol の一つ Pol η が関与し、一方で G4 形成を促進することを見いだした。しかし、両者の関係は明らかではない。そこで、本共同研究では、これを明らかにすることを目的に以下のような研究を計画している。特に、申請者らが作成した Y-Pol 欠損細胞を用いて、Myc 活性化による複製ストレス、G4 安定化剤に対する感受性、がん遺伝子誘導性 G4 に対する応答を解析する。

- 1) Myc 活性化や G4 安定化薬剤による処理が、核内の G4 構造と損傷乗り越え Y-Pol (Pol η , Pol ι , Pol κ , REV1) の局在にどのような効果を与えるか解析する。
- 2) Y-Pol 欠損細胞において、Myc 活性化や G4 安定化剤による G4 増加が、複製ストレス、DNA 二本鎖切断、細胞死に与える影響を解析する。
- 3) Myc 活性化による G4 増加や Y-Pol 経路活性化が、DNA 複製、転写、RNA/DNA hybrid 構造とどのように関連するか解析する

7. 共同研究の成果

薬剤添加により Myc を活性化できるヒト骨肉腫細胞株 U2OS に GFP 標識した Pol η を定常的に発現させたモデル細胞を用いて以下の研究をおこなった。

G4 安定化薬剤 (G4 リガンド) 処理は単独でも Pol η 核内集積を増加させるが、Myc 活性化との同時処理によりその核内集積がさらに増強された。また、RNAi による Pol η 発現抑制は Myc 活性化/G4 リガンド処理による細胞死を増強させた。これらのことは、Myc 活性化による G4 増加への応答に Pol η が関与することが示唆される。しかし、Y-Pol の複製ストレス部位への集積に重要な役割を果たす PCNA モノユビキチン化が G4 リガンド/Myc 活性化で増加せず、また、Myc 活性化/G4 リガンドによる DNA 二重鎖切断は Pol η 発現抑制での増強が見られなかった。以上のことから、Myc による G4 増加とその Pol η による応答は一般的な複製ストレスを介したのではなく、別のストレス応答機構である可能性が考えられる。今後はこの分子機構の解明を進める。また、他の Y-Pol についても解析を進めていく。

8. 共同研究成果の学会発表・研究論文発表状況及び本研究所担当教員との共同研究に関する情報交換 (本研究所の担当教員の氏名の記載のある論文, 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部提出してください。)

①本研究所の担当教員の氏名の記載のある論文

②この共同研究に基づくとの記載のある論文

③学会発表を行った主なもの3件以内 (学会名、開催日、演題)

④本研究所担当教員と申請代表者との共同研究に関する情報交換の状況 (主なやり取りを箇条書き)

研究結果の報告とディスカッション