

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

令和 6 年 4 月 30 日

群馬大学生体調節研究所長 殿

所属機関名 北里大学薬学部
職 名 教授
研究代表者 奥脇 暢

下記のとおり令和5年度の共同研究成果を報告します。
記

(課題番号: 22010)

1. 共同研究課題名	NPM1 による統合的な転写因子結合制御機構の解析				
2. 共同研究目的	本共同研究では、申請者が見出した核小体タンパク質 NPM1 による転写因子結合制御を包括的に解析するため、貴研究所 代謝エピジェネティクス分野 小松講師からの技術供与の下、次世代シーケンサー (NGS) 解析を実施する。NGS 解析による高い網羅性を生かし、遺伝子発現制御の根幹を成す転写因子のゲノム結合に関する新たな知見獲得を目指す。				
3. 共同研究期間	令和5年4月1日 ~ 令和6年3月31日				
4. 共同研究組織					
氏 名	所属等		職名等		役 割 分 担
(研究代表者) 奥脇暢	北里大学薬学部		教授		研究の実施と統括
(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	代謝エピジェネティクス分野		氏 名	小松哲郎

次の6, 7, 8の項目は、枠を自由に変更できます(横幅は変更不可)。6, 7, 8の項目全体では2頁に収めてください。

6. 共同研究計画

令和4年度の共同研究において、コントロールおよび NPM1 KD 細胞における ATAC-seq データを既に取り得している。ATAC-seq データの解析は、小松講師との Zoom 会議等を利用し、議論しながら遠隔で進めた。具体的には、Bowtie2 によるゲノム配列へのマッピング、samtools による重複リードの除去、MACS2 によるピークコールを行った。NPM1 依存的にシグナルが変化するピークを抽出し、HOMER を用いたモチーフ解析により、NPM1 による結合制御を受ける転写因子を網羅的に抽出した。

申請者の所属機関（北里大）において、NPM1 KD 細胞を用いた ChIP-qPCR 法により、同定された転写因子が実際に NPM1 依存的な結合制御を受けるかを検証する。NPM1 による結合制御が実証された場合は、小松講師の技術供与の下、その転写因子を標的とした ChIP-seq あるいは CUT&Tag ライブラリーを調製し、NGS データを取得する。取得データの解析は、上記の ATAC-seq 解析の方法に準じて実施する。

7. 共同研究の成果

本共同研究課題において、生体調節研究所との共同研究が貢献した内容についても具体的に記載してください。

令和4年度にご支援いただいた共同研究において、ATAC-Seq データの取得に成功した。ATAC-Seq データから、NPM1 が標的とする遺伝子の抽出、NPM1 が協調的に働く転写因子の候補を複数見出した。本解析と別途実施した RNA-Sequence 解析を組み合わせ、NPM1 が制御する遺伝子の絞り込みを行った。これらの解析から、NPM1 は酸化ストレス応答関連遺伝子の制御に関わる可能性が示唆された。これらの解析は、生体調節研究所小松講師との共同研究が大きく貢献した。これらの解析結果をもとにして、NPM1 ノックダウン細胞では、酸化ストレス耐性が減弱することが明らかになり、上記解析結果を検証できた。また、今後の解析を行うにあたり、Cut&Tag 法の実施を目的として、北里大学薬学部の大学院生を生体調節研究所に派遣した。本共同研究によって、NPM1 がどのようにがんの悪性化に関わるのかが分子レベルで明らかになりつつあり、今後の発展を目指して共同研究を継続したいと考えている。

8. 共同研究成果に関連する学会発表・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できる限り記載してください。なお、論文の場合は、PDFファイルを以下の研究所庶務係のメールアドレスまで報告書と併せてお送りください。） 研究所庶務係 e-mail : kk-msomu4@ml.gunma-u.ac.jp

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)

- ・ NGS 解析データに関する情報交換(9—12 月)
- ・ NPM1 によって変動するゲノム領域に関する情報交換(1—3 月)
- ・ ATAC-Seq と RNA-Seq の統合解析に関する情報交換(1—3 月)
- ・ 今後の共同研究継続に関する情報交換(1—2 月)