

様式3

神戸大学バイオシグナル総合研究センター共同利用研究報告書

平成 29年 4月 25日

神戸大学バイオシグナル総合研究センター長 殿

所属機関・部局名 東北大学加齢医学研究所 分子腫瘍学
 職 名 講師
 研究代表者名 菅野新一郎

下記のとおり平成28年度の共同利用研究成果を報告します。

記

(課題番号: 281016)

1. 共同利用研究 課題名	ミトコンドリアゲノム安定性を保つ DNA ポリメラーゼとヌクレオイド因子の研究			
2. 共同利用研究 目的	我々はプロテオーム・バイオインフォマティクス解析によりミトコンドリアの DNA ポリメラーゼとして POLG 以外に複数の DNA ポリメラーゼが働いていることをみいだした。これらのポリメラーゼについて生理機能を共同研究しミトコンドリアゲノム安定性を保つメカニズムを明らかにする。			
3. 共同利用研究 期間	平成28年 7月 1日 ~ 平成29年 3月 31日			
4. 共同利用研究組織				
氏 名	所属部局等	職名等	役割分担	
(研究代表者) 菅野新一郎	東北大学加齢医学研究所 分子腫瘍学研究分野	講師	研究統括	
(分担研究者)				
5. センター内受入研究者	研究部門・ 分野名	シグナル統合経路研究 部門ゲノム機能制御研 究分野	氏 名	横井雅幸

※ 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。

(課題番号: 281016)

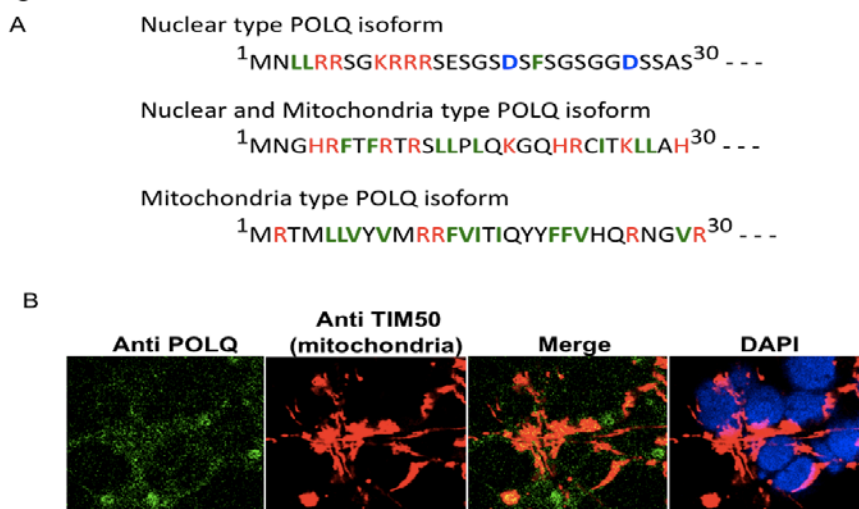
6. 共同利用研究計画

- (1) バイオインフォマティクス解析によりミトコンドリアの DNA ポリメラーゼとして発見した POLQ のミトコンドリア型アイソフォーム遺伝子をクローニングする。
- (2) GFP-tag ベクターを作成しミトコンドリアへの局在を確認する。また、T-Rex ベクターを作成し誘導型安定発現細胞株を樹立し免疫沈降により相互作用タンパク質の同定及びプロテオーム解析を行う。
- (3) ミトコンドリアのクロマチン様タンパク質複合体の主要な構成タンパク質 TFAM は核内にも分布し、ミトコンドリアや核内で複製・修復を制御していると考えられる。このタンパク質の DNA ポリメラーゼにたいする影響を *in vitro* で解析する。

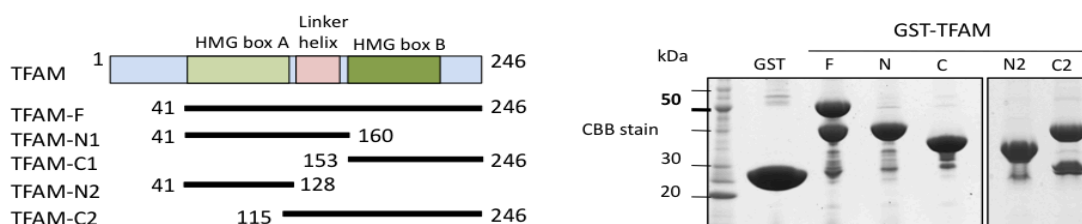
7. 共同利用研究の成果

- (1)、(2) DNA ポリメラーゼ POLQ のミトコンドリア移行シグナルをもつアイソフォーム遺伝子を2つ同定した (Fig.1A)。それぞれの遺伝子をクローニングしているが全長 7-8kbp もあり、部分クローニングにとどまり現在もクローニングを行っている。ベクター作成が遅れているため、POLQ 抗体を使って293細胞を免疫染色しミトコンドリアへの局在を確認した (Fig.1B)。

Fig.1



- (3) ミトコンドリアヌクレオイド構成タンパク質 TFAM の GST 融合リコンビナントタンパク質を作成した。今後、細胞抽出液を使い GST pulldown を行い、相互作用タンパク質を解析して行く予定である。



8. 共同利用研究成果の学会発表・研究論文発表状況

(本センターの担当教員の氏名の記載、又はこの共同利用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。)

まだ研究途上であり発表等はない。

9. 共同利用研究に関連した受賞、博士学位論文の取得、大型研究プロジェクトや競争的資金の獲得等がありましたらご記入ください。