

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 30年 3月 7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 29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 29年 4月 1日 ～ 平成 30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	講師	研究統括 (研究計画の作成と実行)	
(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6～9の項目は、枠幅を自由に変更できます。但し、6～9の項目全体では1頁に収めて下さい。

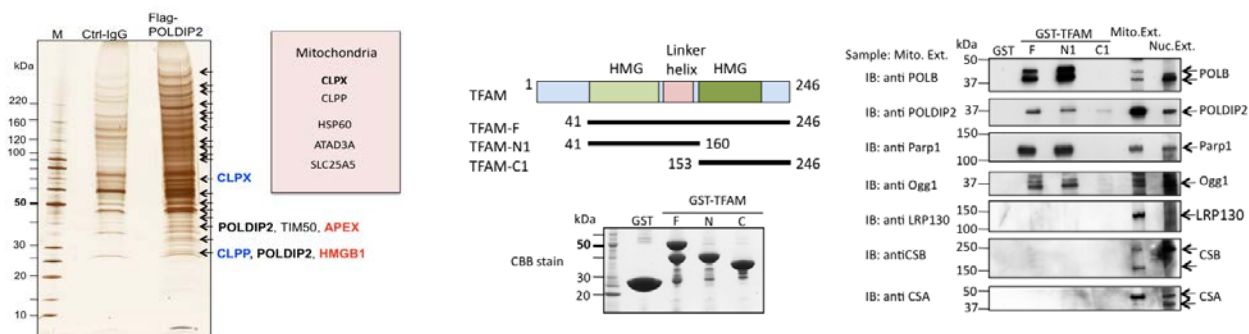
(課題番号: 281016)

6. 共同利用研究計画

- (1) 核とミトコンドリアに分布しゲノム複製やDNA修復に関与すると考えられているPOLDIP2定発現細胞株を樹立した。この細胞を使い紫外線損傷時のプロテオーム解析を行う。この実験で POLDIP2 の Replicative DNA polymerase と TLS polymerase の exchange factor としての機能を明らかにする。また、ミトコンドリアでの translesion synthesis のメカニズムを明らかにする。
- (2) POLDIP2 の免疫沈降で相互作用タンパク質としてミトコンドリアの複製に関わる因子 ATAP3A,と CLPX, TFAM を同定した。これらのタンパク質についてリコンビナントタンパク質の作成および定発現細胞株を樹立しミトコンドリアゲノムの複製について解析する。(3)MitoPOLQ のクローニングを引き続き行う。

7. 共同利用研究の成果

- (1) 核とミトコンドリアに分布しゲノム複製やDNA修復に関与すると考えられているPOLDIP2のプロテオーム解析を行った。その結果、相互作用タンパク質としてPOLB, ATAP3A, CLPX-CLPP複合体, TFAM, HSP60, SLC25A5, APEXが同定されPOLDIP2がミトコンドリアヌクレオイド因子であることが示唆された。
- (2) ミトコンドリアヌクレオイド因子であるTFAMと他の因子との結合サイトをGST-deletion mutantを使ったGST pull-downとwestern blotsで解析した。その結果、TFAMの2つのHMG domainのうちN端側のドメインのみにPOLDIP2, POLB, PARP1, Ogg1などのDNA複製や修復に関わるタンパク質が結合していた。このことからTFAMはC端側のHMG domainでmtDNAに結合し、N端側のドメインで相互作用タンパク質と結合していることが予想された。



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。

ない。