

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 31年 4月 9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 東北医科薬科大学・医学部  
職 名 助教  
研究代表者名 柳原 晃弘

下記のとおり平成30年度の共同利用研究成果を報告します。

記

(課題番号:282001)

1. 共同利用研究 課題名	紫外線に応答した NBS1 の核内挙動とゲノム維持機能の解析			
2. 共同利用研究 目的	センター保有の貴重なリソースおよび高性能解析機器を活用し、ゲノム安定性維持機構における NBS1 遺伝子の新規分子機能を解明する。			
3. 共同利用研究 期間	平成 30年 4月 1日 ~ 平成 31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) 柳原 晃弘	東北医科薬科大学医学部	助教	研究の実施・総括	
(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	酒井 恒

※ 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:282001)

6. 共同利用研究計画

NBS1 タンパク質は放射線感受性、発がん、染色体異常に関わるタンパク質であり、放射線照射によって生じた DNA 二重鎖切断 (DSB) 部位に集積することがわかっている。一方で、申請者らは NBS1 が紫外線照射部位にも集積することを見出した。NBS1 のこの性質が、発がんや染色体異常と関係があるのかが興味深い。紫外線自体は直接 DNA を切断できるほどのエネルギーを有しておらず、シクロブタン型ピリミジンダイマー (CPD) や 6-4 光産物と呼ばれる放射線とは異なる DNA 損傷を形成する。そのため、NBS1 が示す紫外線応答性は、これまでに知られている放射線応答機能とは異なる新規機能である可能性が考えられる。NBS1 の紫外線照射部位への集積にどのような因子が必要なのか、どのような経路をたどって集積するのかは不明であるので、紫外線損傷修復の専門家である受入れ研究室との共同研究によりこれらの点を明らかにする。

本年度の具体的な計画としては、DNA 修復に関わるタンパク質を siRNA でノックダウンし、NBS1 の局在変化への影響を調査する。局在変化観察は、蛍光免疫染色法または GFP 融合タンパク質発現細胞を用いたライブセルイメージングで行う。

7. 共同利用研究の成果

DNA 修復関連タンパク質のノックダウン実験により、NBS1 の局在変化に全く影響を与えないものと、顕著な抑制作用を示すものが明らかとなった。この結果は、免疫染色法とライブセルイメージング法の両方で確認された。また、複数種の siRNA による抑制効果が確認された。抑制効果を示した siRNA は、紫外線特異的な経路の存在を推測させるものであった。これらの結果が siRNA のオフターゲット効果でないことを示すため、今後 add-back 実験による検証を計画している。

研究の過程で、放射線応答性を示すことが知られている他のいくつかのタンパク質も紫外線照射部位に集積するという、想定外の結果を得ることもできた。これらのタンパク質の集積理由として、紫外線照射部位に DSB が生じたという可能性、あるいは DSB ではない別の可能性が考えられるが、本研究での紫外線照射条件ではほとんど DSB は生じないという報告がある。この点については今後慎重な解析が必要であるものの、放射線応答性と紫外線応答性の関係について何か共通項があるのではないかと考えられ、大変興味深い。

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。)

該当無し

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。

該当無し