

| | |
|------|-------|
| 課題番号 | LS105 |
|------|-------|

**先端研究助成基金助成金(最先端・次世代研究開発支援プログラム)
実施状況報告書(平成 23 年度)**

本様式の内容は一般に公表されます

| | |
|----------------|--|
| 研究課題名 | 再生医療・癌治療への細胞老化の分子機構の利用- エピジェネティクスからのアプローチ |
| 研究機関・ 部局・職名 | 名古屋市立大学・大学院医学研究科・講師 |
| 氏名 | 島田 緑 |

1. 当該年度の研究目的

Chk1 は細胞増殖に必須で染色体安定性の維持に重要なリン酸化酵素である。Chk1 を欠失させるとヒストン H3-T11 のリン酸化が減少し、細胞老化が誘導される。Chk1 欠失により細胞老化が誘導される分子機序を明らかにするために、Chk1 の新たな標的因子を調べ、その意義について検討する。特にヒストン修飾は他のヒストン修飾とクロストークして作用することから、H3-T11 以外の Chk1 の標的となりうるヒストンリン酸化部位を決定し、その意義を明らかにする。さらに、ChIP seq 法、MeDIP 法を用いてゲノム上における、Chk1、H3-T11 のリン酸化部位を明らかにし、DNA メチル化との関連を調べることで、細胞老化状態を規定するエピジェネティック修飾を網羅的に調べていく。

2. 研究の実施状況

- ① エピジェネティクス修飾を介した新規細胞老化分子機構の解明
コンディショナルにノックアウトできる Chk1 MEF 細胞を用いて質量分析を行い、Chk1 欠失細胞においてリン酸化が減少する因子およびリン酸化部位を網羅的に同定することを試みた。その結果、細胞周期関連因子、核膜タンパク質、ユビキチンプロテアソーム系因子、スプライシング因子など多くの新規 Chk1 標的因子を同定することができた。実際に *in vitro* において Chk1 の基質であるかについてリコンビナントタンパク質を作製し、確認した。現在はリン酸化部位を置換した変異タンパク質を作製し、*in vitro/in vivo* でのアッセイを検討し、Chk1 によるリン酸化の重要性について調べている。
- ② Chk1によるヒストンテールのリン酸化修飾部位を同定し、修飾の意義を明らかにする
In vitro でヒストンを基質とし Chk1 の Kinase assay を行い、Chk1 の基質となるヒストンのリン酸化修飾部位を同定した。その中で DNA 損傷応答に重要なヒストンのリン酸化部位が存在することが明らかとなったので、現在は(1)リン酸化修飾抗体を作製し *in vivo* での変化について (2)リン酸化部位をアラニンに置換した変異体をヒストン欠失細胞に導入し、細胞増殖および DNA 損傷応答における表現型について 検討し、新規ヒストンのリン酸化の重要性を明らかにしようとして試みている。

様式19 別紙1

- ③ Chk1がクロマチン修飾を行う領域を決定する
非同調増殖細胞における Chk1 の結合領域を ChIP seq 法を用いて同定した。現在は詳細な解析を行い、検出した領域の特徴から Chk1 の新たな機能を推測しているところである。

「国民との科学・技術対話」の推進については、当該研究機関で開催されたオープンカレッジで成果を発表し、市民に分かりやすく研究成果を伝えた。

3. 研究発表等

| | |
|-------------------------------|--|
| 雑誌論文 計 0 件 | (掲載済み一査読有り) 計 0 件 (掲載済み一査読無し) 計 0 件 (未掲載) 計 0 件 |
| 会議発表 計 5 件 | <p>専門家向け 計 4 件</p> <p>(1) 守田科学研究奨励賞受賞講演 島田 緑、染色体安定性維持機構の研究、 アルカディア市ヶ谷、東京都、2011 年 6 月 4 日、大学女性協会</p> <p>(2) 金沢大学 セミナー 島田 緑、DNA 損傷に应答するエピジェネティック制御 金沢大学がん進展制御研究所、石川県、2011 年 7 月 27 日、金沢大学</p> <p>(3) 第二回 高次クロマチン研究会 島田 緑、DNA 損傷に应答するエピジェネティック制御 公立学校共済組合蒲郡保養所 蒲郡荘、愛知県、2011 年 8 月 10 日、高次クロマチン研究会</p> <p>(4) 新学術領域 若手の会 島田 緑、DNA 損傷に应答するエピジェネティック制御 軽井沢プリンスホテル、長野県、2011 年 9 月 19 日、新学術領域「細胞運命制御」</p> <p>一般向け 計 1 件</p> <p>(1) 名古屋市立大学平成 23 年度第2期オープンカレッジ「名市大発の新医療へ向けて」 島田 緑、癌治療を目指した細胞老化誘導の分子機構の解明、 名古屋市立大学、愛知県、2011 年 10 月 7 日、名古屋市立大学</p> |
| 図書 計 0 件 | |
| 産業財産権 出願・取得状 況 計 0 件 | (取得済み) 計 0 件 (出願中) 計 0 件 |
| Webページ (URL) | |

様式19 別紙1

| | |
|-------------------------|--|
| <p>国民との科学・技術対話の実施状況</p> | <p>名古屋市立大学 平成 23 年度第 2 期オープンカレッジ 名市大発の新医療へ向けて(モデルを用いた挑戦) 標題: がん治療を目指した細胞老化誘導の分子機構の解明 実施日: 平成 24 年 10 月 7 日 場所: 名古屋市立大学 対象者: 教育・保育・福祉関係者、医療関係者、行政自治体関係者、企業関係者等幅広い社会人及び一般市民(学生・大学院生の聴講可) 参加者数: 27 内容: 生物のもつ遺伝情報 DNA には恒常的に放射線や紫外線, 化学物質などによって傷が入っています。そのような DNA 損傷に対して生物は複数の防御機構(チェックポイント, DNA 修復, アポトーシス誘導, 早期細胞老化)を持っており, これらの防御機構の破綻は発癌や様々な遺伝子疾患をもたらします。我々は細胞内にある特定の酵素が, DNA 損傷をいち早く察知し, がんの発生・増殖を防いでいることを見出しました。その酵素を中心に細胞増殖と細胞老化の分子機構を解明し, 腫瘍化を防御する手法の確立を目標とした最近の成果を報告致します。</p> |
| <p>新聞・一般雑誌等掲載計 1 件</p> | <p>社団法人 大学女性協会会報 242号、2011.7.25 6, 7 面 「染色体安定性維持機構の研究 一再生医療、癌治療への応用を目指して」</p> |
| <p>その他</p> | |

4. その他特記事項

実施状況報告書(平成23年度) 助成金の執行状況

本様式の内容は一般に公表されます

1. 助成金の受領状況(累計)

(単位:円)

| | ①交付決定額 | ②既受領額 (前年度迄の累計) | ③当該年度 受領額 | ④(=①-②- ③)未受領額 | 既返還額(前 年度迄の累 計) |
|------|-------------|--------------------|--------------|-------------------|-----------------------|
| 直接経費 | 119,000,000 | 36,040,000 | 0 | 82,960,000 | 0 |
| 間接経費 | 35,700,000 | 10,812,000 | 0 | 24,888,000 | 0 |
| 合計 | 154,700,000 | 46,852,000 | 0 | 107,848,000 | 0 |

2. 当該年度の収支状況

(単位:円)

| | ①前年度未執 行額 | ②当該年度 受領額 | ③当該年度 受取利息等 額(未収利 息を除く) | ④(=①+②+ ③)当該年度 合計収入 | ⑤当該年度執 行額 | ⑥(=④-⑤) 当該年度未執 行額 | 当該年度返 還額 |
|------|--------------|--------------|----------------------------------|---------------------------|--------------|-------------------------|-------------|
| 直接経費 | 35,610,373 | 0 | 0 | 35,610,373 | 30,964,455 | 4,645,918 | 0 |
| 間接経費 | 10,812,000 | 0 | 0 | 10,812,000 | 4,857,564 | 5,954,436 | 0 |
| 合計 | 46,422,373 | 0 | 0 | 46,422,373 | 35,822,019 | 10,600,354 | 0 |

3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

| | 金額 | 備考 |
|---------|------------|-------------|
| 物品費 | 22,907,909 | 実験試薬・備品 |
| 旅費 | 28,500 | 学会出席 |
| 謝金・人件費等 | 4,402,086 | 研究補助員謝金 |
| その他 | 3,625,960 | データ解析・動物飼育費 |
| 直接経費計 | 30,964,455 | |
| 間接経費計 | 4,857,564 | |
| 合計 | 35,822,019 | |

4. 当該年度の主な購入物品(1品又は1組若しくは1式の価格が50万円以上のもの)

| 物品名 | 仕様・型・性能 等 | 数量 | 単価 (単位:円) | 金額 (単位:円) | 納入 年月日 | 設置研究機関 名 |
|-------|-----------------------|----|--------------|--------------|-----------|-------------|
| 蛍光顕微鏡 | HSオールインワン・ BZ-9000 | 1 | | 9,912,315 | 2012/2/17 | 名古屋市立大学 |
| | | | | 0 | | |
| | | | | 0 | | |