

| | |
|------|-------|
| 課題番号 | LS131 |
|------|-------|

**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 24 年度)**

本様式の内容は一般に公表されます

| | |
|----------------|--------------------------------|
| 研究課題名 | ヒト RDRC/RITS 複合体の同定とその機能解析 |
| 研究機関・ 部局・職名 | 独立行政法人国立がん研究センター・がん幹細胞研究分野・分野長 |
| 氏名 | 増富 健吉 |

1. 当該年度の研究目的

ヘテロクロマチン構造は正常な遺伝子発現をOFF状態に維持する際に必要な構造である。これまでに、染色体ヘテロクロマチン構造維持に関わるヒト RDRC/RITS 複合体の構成因子としての hTERT-Brg1-NS/GNL3L が有力な候補であることを見出してきた。当該年度は、(1) hTERT-Brg1-NS/GNL3L がヒト RDRC/RITS 複合体としてヘテロクロマチン構造維持にかかわること (2) ヒト RDRC/RITS 複合体としての hTERT-Brg1-NS/GNL3L が制御する領域を同定することを specific aim として研究を推進した。

2. 研究の実施状況

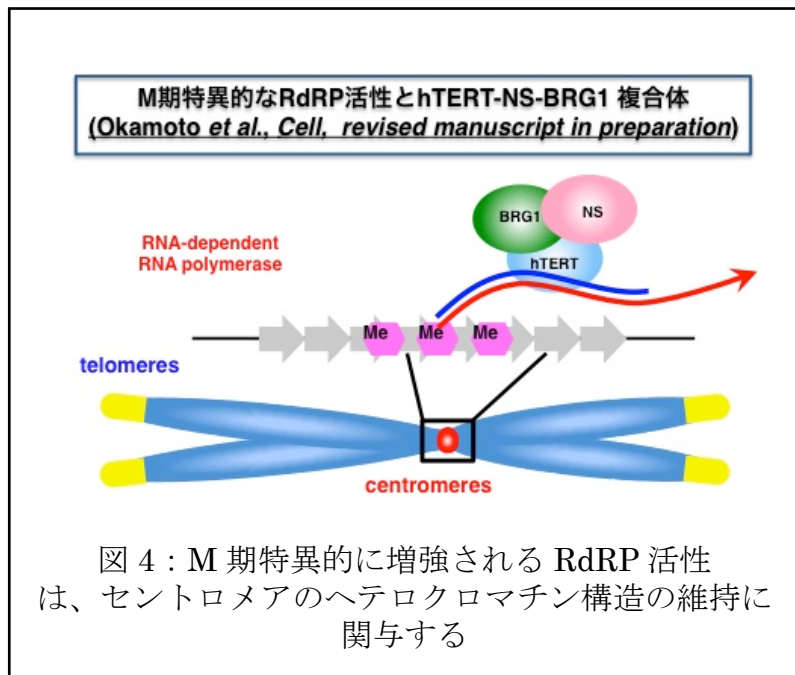
本年度は、hTERT-Brg1-NS/GNL3L が RNA dependent RNA polymerase (RdRC)として機能することを見出した。具体的には1. 培養細胞を用いて、M 期特異的 RdRP 複合体の精製と試験管内 RdRP 活性の検出系を確立した。また、M 期特異的 RdRP 活性の増強に、がん幹細胞の機能維持に関わる TBN 複合体が重要であることを見出した。(図1)

2. TERT がテロメアのみならず、M 期特異的にセントロメアやレトロトランスポゾン領域において RdRP 活性による siRNA 合成を介してテロメア以外のヘテロクロマチン構造維持に関わることを見出した。(図4)

Figure 1 shows Western blot analysis and RdRP activity assay. The Western blot is divided into two main sections: HeLa-hTERT-DMSO and HeLa-hTERT-Nocodazole. Each section includes lanes for Input, Fraction 1 through Fraction 10, and a control lane (NC). The Western blot is probed for BRG1, hTERT, and NS. Below the Western blot, RdRP activity is measured in the same fractions. A box highlights the RdRP activity in the Nocodazole fractions, indicating that the TBN complex shows strong RdRP activity.

図1：試験管内 RdRP 活性の検出系の確立と M 期特異的に形成される TBN 複合体が強い RdRP 活性を示す(図右の囲み線)

まとめると、TERT の RdRP 活性が TERT-BRG1-NS 複合体(以下、TBN 複合体)を介して M 期特異的に増強されることを見出している(*Cell*, revised manuscript in preparation)。



3. 研究発表等

| | |
|---------------|--|
| 雑誌論文 計 2 件 | (掲載済み一査読有り) 計 1 件 Yunokawa M, Koizumi F, Kitamura Y, Katanasaka Y, Okamoto N, Kodaira M, Yonemori K, Shimizu C, Ando M, Masutomi K, Yoshida T, Fujiwara Y, Tamira K Efficacy of everolimus, a novel mTOR inhibitor, against basal-like triple-negative breast cancer cells <i>Cancer Science</i> 2012; 103: 1665-1671 (掲載済み一査読無し) 計 1 件 木下圭太、増富健吉 テロメラーゼの新機能 医学のあゆみ 241(11):841-845,2012 (未掲載) 計 0 件 |
| 会議発表 計 6 件 | 専門家向け 計 6 件 1. 増富健吉 がん研究のパラダイムシフト:がん性疼痛をがん幹細胞研究で考えてみる 黒部市民病院講演会 黒部市民病院 2013年2月15日 |

様式19 別紙1

| | |
|----------------------|---|
| | <p>2. <u>増富健吉</u> ヒト RNA 依存性 RNA ポリメラーゼとがん幹細胞 第35回日本分子生物学会年会 福岡国際会議場 2012 年 12 月 11 日～14 日(招待講演)</p> <p>3. 岡本奈緒子、加藤友康、吉田政行、山口聡子、安川麻美、木下圭太、津田均、深見希代子、<u>増富健吉</u> 卵巣がんにおけるがん幹細胞関連因子及び hTERT 複合体の発現検討 第35回日本分子生物学会年会 福岡国際会議場 2012 年 12 月 11 日～14 日(ポスター発表)</p> <p>4. Kinoshita K, Ohka S, Yasukawa M, Okamoto N, Totoki Y, Lassmann T, Ando Y, Ito T, Minamino T, Nakamura H, Fukami K, Shibata T, Hayashizaki Y, <u>Masutomi K</u> Link between heterochromatin maintenance and tumor initiating cell by human telomerase reverse transcriptase (hTERT) 第71回日本癌学会総会 ロイトン札幌 2012 年 9 月 19 日～21 日(口頭発表)</p> <p>5. 岡本奈緒子、加藤友康、吉田政行、山口聡子、安川麻美、木下圭太、深見希代子、津田均、<u>増富健吉</u> 卵巣がんの組織型におけるがん幹細胞関連遺伝子の発現検討 第71回日本癌学会総会 ロイトン札幌 2012 年 9 月 19 日～21 日(口頭発表)</p> <p>6. <u>増富健吉</u> テロメラーゼ・幹細胞・がん 第116回日本眼科学会総会 東京国際フォーラム 2012 年 4 月 7 日(招待講演)</p> <p>一般向け 計 0 件</p> |
| <p>図 書 計 1 件</p> | <p><u>Masutomi K</u>, Hahn WC “Telomerases: Chemistry, Biology and Clinical Applications” Chapter 8: Off-telomerase function of telomerase John Wiley & Sons, ISBN 978-0470592045, 201-212, 2012</p> |

様式19 別紙1

| | |
|--|---|
| <p>産業財産権 出願・取得状 況 計0件</p> | <p>(取得済み) 計0件 (出願中) 計0件</p> |
| <p>Webページ (URL)</p> | <p>http://www.ncc.go.jp/jp/nccri/divisions/p10cell/p10cell.html</p> |
| <p>国民との科 学・技術対話 の実施状況</p> | <p>2012年7月21日、東京都広尾学園高等学校の1～3年(約40名)を対象とした出張講義を行った 標題「テロメラーゼ新規機能とがん幹細胞」 http://www.ncc.go.jp/jp/about/rinri/suishin/suishin_02.html</p> <p>2012年11月19日、東京都広尾学園高等学校 医進・サイエンスコースの生徒・教諭が当研究室を訪問見学 http://www.ncc.go.jp/jp/about/rinri/suishin/suishin_03.html</p> |
| <p>新聞・一般雑 誌等掲載 計0件</p> | |
| <p>その他</p> | |

4. その他特記事項

実施状況報告書(平成24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 | 127,000,000 | 62,000,000 | 13,200,000 | 51,800,000 | |
| 間接経費 | 38,100,000 | 18,600,000 | 3,960,000 | 15,540,000 | |
| 合計 | 165,100,000 | 80,600,000 | 17,160,000 | 67,340,000 | 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 | 44,471,345 | 13,200,000 | 0 | 57,671,345 | 30,041,114 | 27,630,231 | |
| 間接経費 | 0 | 3,960,000 | 0 | 3,960,000 | 3,960,000 | 0 | |
| 合計 | 44,471,345 | 17,160,000 | 0 | 61,631,345 | 34,001,114 | 27,630,231 | 0 |

3. 当該年度の執行額内訳 (単位:円)

| | 金額 | 備考 |
|---------|------------|----------------------|
| 物品費 | 15,280,795 | 実験試薬、アイソトープ等 |
| 旅費 | 84,580 | 成果発表(分子生物学会)旅費 |
| 謝金・人件費等 | 12,426,321 | 博士研究員人件費、特任研究補助員人件費 |
| その他 | 2,249,418 | 蛋白解析委託、通信費、動物管理区域保清料 |
| 直接経費計 | 30,041,114 | |
| 間接経費計 | 3,960,000 | |
| 合計 | 34,001,114 | |

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 |
|-----|--------------|----|--------------|--------------|-----------|-------------|
| なし | | | | 0 | | |
| | | | | 0 | | |
| | | | | 0 | | |