

提出日：平成 29 年 5 月 9 日

平成 28 年度 大阪大学蛋白質研究所 拠点事業

## (2) 研究成果の概要

課題名	相同組み換えのメカニズム解明と高率化の方法論開発		
研究代表者	氏名	広常 真治	
	所属機関名・部局名	大阪市立大学・大学院医学研究科	
	職名	教授	
事業名 (該当の事業名の右欄に○)	○	共同研究員	
		超高磁場NMR 共同利用研究課題	
		クライオ電子顕微鏡共同利用研究課題	
		客員フェロー	
蛋白研受入担当教員名	篠原 美紀		
<p>Neocarzinostatin は不安定な発色団（二環性ジエンジイン構造）と 113 アミノ酸からなるアポタンパク質の 2 つの部分からなり発色団は非常に強力な DNA 損傷剤である。細胞中に存在する還元的条件下でのエポキシドの開環によって、ジラジカル中間体の産生と DNA 二重鎖の切断が起こる。</p> <p>まず、マウス繊維芽細胞と ES 細胞において neocarzinostatin で処理し、<math>\gamma</math>-H2AX 抗体、Rad51 抗体、p53BP1 抗体を用いて免疫組織化学を行い共焦点顕微鏡で観察した。マウス繊維芽細胞と ES 細胞ではゲノム DNA の二本鎖切断後に高い頻度で Rad51 あるいは p53BP1 の集積が見られ、特に<math>\gamma</math>-H2AX と一致していることが分かった。さらに、頻度的にもマウス繊維芽細胞と ES 細胞では顕著な差は認められなかった。</p> <p>次にマウスの受精卵に対しても neocarzinostatin で処理し、<math>\gamma</math>-H2AX 抗体、Rad51 抗体、p53BP1 抗体を用いて免疫組織化学を行い、delta vision で観察し、像を再構築し三次元的な解析を行った。その結果、マウス受精卵においてもゲノム DNA の二本鎖切断後に Rad51 あるいは p53BP1 の集積が見られ、特に<math>\gamma</math>-H2AX と一致していることからマウス受精卵においても相同組み換えや非相同末端結合による DNA の二本鎖切断修復が起こっていることがわかった。しかし、頻度と Rad51 あるいは p53BP1 の集積はマウス繊維芽細胞、ES 細胞と比較して低いことが分かった。</p>			

※本様式は、“拠点事業成果報告”として、拠点ホームページにて公開させていただく予定です。

※必ず A4 用紙 1 枚におさめて下さい。 ※提出期限：平成 29 年 5 月 19 日（金） ※提出の際は PDF 変換して下さい。

※提出先：大阪大学蛋白質研究所拠点プロジェクト班 E-mail: tanpakuken-kyoten@office.osaka-u.ac.jp