

徳島大学先端酵素学研究所「共同利用・共同研究」報告書

平成 30 年 3 月 30 日

1) 申請者の氏名・所属・職位

宇井彩子・東京工科大学・准教授

2) 共同利用または共同研究の項目（共同利用A1～A4；共同研究B1～B17）

共同研究 B-16. 分子内分泌学研究分野（担当：福本誠二教授）

3) 共同利用または共同研究の題目

UBE3Cを介したエストロゲンとDSBシグナルの共役機構の高次機能解

4) 共同利用または共同研究の組織

沢津橋俊講師：徳島大学におけるマウス作出

岡田麻衣子研究員：徳島大学におけるマウス個体サンプルの調整とエストロゲン受容体の機能解析

宇井彩子准教授：徳島大学におけるマウス個体サンプルの調整とマウス卵子のDSB解析

5) 共同利用または共同研究の目的

生殖器の発達や成熟には性ホルモンが重要な役割を担っている。生殖器の老化は不妊と関連が深いため、特に高齢出産では卵子の老化が問題になっているが、そのメカニズムは不明な点が多い。細胞の老化には DNA 損傷が関与するが、特に DNA 二本鎖切断（DNA double strand break; DSB）はゲノム安定性に関与し、その破綻は細胞がん化・老化に関与する。申請者は一貫して染色体安定性維持にかかわる DSB 修復とがん化・老化の関連を研究を行ってきた。申請者は、これまで福本研究室との共同研究によりユビキチ E3 ライゲースである UBE3C の変異体マウスを作出し、昨年度の共同研究による解析でこのマウスは産仔数や原子卵胞の減少を引き起こすことが示唆された。さらに、UBE3C は DSB 依存的に起こるリン酸化候補部位を有しており、DSB に反応して DSB 部位に集積すること、近年卵子の老化への関与が報告されている家族性乳がん原因遺伝子であり DSB 修復因子 BRCA1 の機能に影響を与えることを見出している。さらに

UBE3C がエストロゲン受容体により活性化されることを見出ししており、上記の UBE3C の機能はエストロゲンのシグナルと DSB のシグナルの両方を受けている可能性がある。以上を踏まえると、生殖器の老化において、ホルモンと UBE3C, DSB 制御とのクロストークが予測される。そこで、昨年度の E3 ライゲース活性欠損マウスの卵子の老化に焦点を当てた機能解析に加えリン酸化不全マウスの樹立を試みる。

6) 共同利用または共同研究の成果

昨年度より徳島大学ですでに沢津橋先生と竹本先生により樹立していただいた E3-ligase 活性欠損マウス (C1051A マウス) の解析を行うため、マウス個体サンプルの調整と解析を行った。徳島大学の沢津橋特任講師に作成・維持していただいた C1051A マウスは、C1051A マウスは妊娠・出産が可能であった。しかし、C1051A マウスはコントロールマウスに比べて産仔数や原始卵胞数の減少傾向が観察された。このことから、卵巣機能の低下の可能性が示唆される。卵巣機能の低下の要因の一つとして、卵巣の機能不全や卵子自体の細胞老化が挙げられる。近年、申請者らは、UBE3C が DNA 修復で機能する可能性と、近年卵子の老化との関連が報告されている家族性乳がん原因遺伝子であり DNA 修復因子の BRCA1 のタンパク質の安定性と DSB 末端への結合に影響を与える可能性を見いだしている。そこで、沢津橋特任講師のご協力のもと、各種マウスから MEF の調整を行った。今後はこれらの MEF を用いて、細胞老化や細胞がん化への影響を明らかにすることにより、UBE3C の DNA 修復における機能を明らかにする。また、C1051A マウスにおける産仔数の変化も明らかにする。さらに、C1051A およびコントロールマウスの卵巣を週齢を追って摘出し、卵巣内の細胞群に DNA 損傷が蓄積している可能性を DSB のマーカーである γ H2AX の foci 数の変化や DSB 修復タンパク質の蓄積の変化などを明らかにし、C1051A マウスにおいて細胞が老化している可能性について検討する。