助成番号　210858	５－２

研 究 成 果 報 告 書

研究テーマ（和文）	核酸の化学塩基修飾が制御するゲノム安定性と細胞がん化・炎症発症分子機構の解明		
研究テーマ（英文）	Molecular Mechanisms of Genome Stability and Development of Cellular Oncogenesis and Inflammation Regulated by Chemical Base Modifications of Nucleic Acids		
研究期間	2021年11月 ～ 2022年10月	研究機関名　東京理科大学	
研究代表者	氏名	（漢字）	櫻井　雅之
		（カタカナ）	サクライ　マサユキ
		（英文）	Masayuki Sakurai
	所属機関・職名		東京理科大学 生命医科学研究所・准教授
共同研究者 ＊２名をこえる場合は、【別紙追加用紙】(P3)に３人目以降を追記してください。	氏名	（漢字）	
		（カタカナ）	
		（英文）	
	所属機関・職名		
	氏名	（漢字）	
		（カタカナ）	
		（英文）	
	所属機関・職名		

概要 （600 字～800 字程度にまとめてください。）

DNAとRNAは4種の核酸塩基 A, G, C, T(U)で構成される。しかし生命には，塩基構造を化学修飾して編集する機構を備えている。本研究では，アデノシン(A)からイノシン(Ｉ)塩基への脱アミノ化反応修飾に着目した。報告者らは近年，これを担う酵素 ADAR が二本鎖 RNA だけでなく，DNA:RNA ハイブリッド鎖を基質として DNA をも編集することを発見している。DNA イノシンは複製を経て G へと変化する。

本研究では，がん培養細胞で ADAR 発現抑制時の解析により，DNA 損傷の増大と修復系の活性化が引き起こされること，細胞分裂期における停止からの細胞死の表現型を得た。これらの知見は，がん培養細胞において DNA イノシン化は細胞全体としては修復機構であることを示唆している。そこで詳細な分子機構解明に向け，世界初となる DNA 上の編集部位を同定する技術の開発を進めた。これまでに，イノシン特異的に蛍光標識またはタグ官能基標識し，イノシンを含む核酸分子を精製することに成功した。これを用いて，ヒト培養細胞およびマウス組織におけるゲノム DNA 中のイノシン部位の網羅的同定を進めている。この解析により同定される DNA 上のイノシン化の頻度と部位の差は，細胞がん化のマーカーとしての活用が期待でき，本技術は血液など液体試料に含まれる核酸を検体として，脱アミノ化塩基編集異常を検出診断する手法の基盤ともなる。また，本解析により ADAR 発現抑制時に細胞種に依らず急激に活性化される転写因子を同定した。これまでにこの転写因子の活性化が RNA:DNA 構造の形成に依存し，さらにその機能として DNA の脱メチル化と関与する知見が得られている。これは，RNA 依存的な DNA への ADAR によるイノシン化が，遺伝子発現制御の転写と，クロマチン状態の変化に寄与することを示している。

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）

雑誌	論文課題					
	著者名		雑誌名			
	ページ	～	発行年		巻号	
図書	書名	RNA・DNA 編集によるゲノム安定性制御　月刊「理大　科学フォーラム」12 月号				
	著者名	櫻井雅之				
	出版社	東京理科大学	発行年	2　0　2　2	総ﾍﾟｰｼﾞ	14-17

英文抄録（100 語～200 語程度にまとめてください。）

Our research interest is the molecular mechanisms and biological functions of RNA and binding proteins, focusing on RNA structures and modifications. We focused on Adenosine Deaminase Acting on RNA (ADAR), and the functions of adenosine-to-inosine (A-to-I) RNA editing by ADARs. In this study, we have conducted studies to clarify the molecular mechanism of RNA:DNA hybrid strand in R-loop, its effect on genomic stability, and cellular response regulated by A-to-I editing activity of ADAR. We have found that the deprivation of ADAR in the culturing cells caused accumulation of R-loops, which brought cell phenotypes such as cell death, DNA damage responses, and mitotic arrest during cell cycles. Those observations indicated the ADAR regulates the DNA repairing systems and the mitosis regulators. To clarify unknown factors and regions for the mechanism, we are performing systematical identification of R-loop regions using immunoprecipitated RNA and DNA samples by the Next Generation Sequencing. Additionally, we have developed a new technique to identify inosines in DNA strands by utilizing inosine-specific chemical labeling technique and the NGS. Moreover, we found a family of transcriptional factors that acutely show enhanced expression in ADAR-deprived cells, which would regulates transcription at the R-loop region.