

講演番号：3C17p05

講演日時：3月19日 15:00～ C校舎17会場

酵母凝集反応を利用した新規エピジェネティック変異原検出法の開発

Epigenetic mutagen can be detected by using the yeast flocculation as indicator

○杉山 圭一、古沢 博子、グルーズ ピーター、本間 正充 (国立衛研・変異遺伝部)

○Kei-ichi SUGIYAMA, Hiroko FURUSAWA, Petr GRUZ, Masamitsu HONMA (Nat. Inst. Health Sci.)

【背景】近年、プロモーションなどの発がん機序にエピジェネティック制御のかく乱が指摘されるなか、エピジェネティック変異原 (エピ変異原) 検出系の早期の開発が求められているが、現時点では衆目の一致するところのエピ変異原短期スクリーニング系はない。一方、真核微生物の出芽酵母においては、DNA methyltransferase (*DNMT*) 遺伝子は未同定であるが、既に我々はヒト *DNMT* 遺伝子形質転換酵母 (ヒト *DNMT* 酵母) が凝集性を獲得し、凝集関連遺伝子の1つ *FLO1* 遺伝子の mRNA レベルが亢進していることを明らかにしている<sup>1)</sup>。さらに、この凝集性は *DNMT* 阻害剤とヒストン脱アセチル化酵素阻害剤 (HDACi) に可逆的に応答することも報告している<sup>1,2)</sup>。

【目的】本研究では、酵母凝集性を指標にエピ変異原の同定を試みた。被検物質として、元既存添加物であるアカネ色素含有成分のアリザリンを用いた。アントラセン誘導体のアリザリンはプロモーション作用が指摘され、同色素はげっ歯類を用いた発がん試験で発がん性が認められている。

【方法】凝集レベルは画像より半定量化し、*FLO1* 遺伝子の転写レベルは RT-PCR により解析した。Western blot によりヒストン H3 量を、また DAPI を用いた核染色像の観察によりクロマチン構造に対する影響を検討した。GFP を用いた *FLO1* レポーターアッセイ系を構築し、アリザリンが同活性に示す作用も検証した。なお、ヒト *DNMT* 酵母には、DNA 維持メチル化酵素 *DNMT1* と新規メチル化酵素 *DNMT3B* 遺伝子発現プラスミドを出芽酵母に形質転換した株を使用した。

【結果および考察】ヒト *DNMT* 酵母およびコントロール株において、アリザリン濃度 (0 - 4.0 μM) 依存的な凝集と、*FLO1* mRNA レベルの上昇が確認された。一方、アントラセン処理では同様の作用は認められなかった。HDACi のトリコスタチン A もアリザリンと同様の効果を示すことから、コアヒストンに対するアリザリンの作用を検討したところ、ヒストン H3 量の減少と DAPI による核染色像の異常が観察された。また、凝集誘発作用をより高感度に検出できるコントロール株において、アリザリンによる *FLO1* レポーター活性の上昇も確認された。以上の結果は、アリザリンがエピ変異原であること、また酵母凝集性を指標にエピ変異原が検出できることを示唆している。

1) Sugiyama, K., et al., *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **456**, 689-694 (2015).

2) Sugiyama, K., et al., *Mutagenesis* **31**, 687-693 (2016).

yeast, flocculation, epigenetic mutagen

発表責任者：杉山圭一 (sugiyama@nihs.go.jp)