

九州産業大学大学院

KYUSHU SANGYO UNIVERSITY GRADUATE SCHOOL



令和2年度 研究成果発表会

がん抑制遺伝子*KANK1*による 細胞分裂異常の研究

Study of the abnormal cell division by tumor suppressor gene *KANK1*

工学研究科 産業技術デザイン専攻

今村育実

主査 木山亮一
副査 満生慎二
高杉美佳子

目的

研究の目的

- ・ がん抑制遺伝子KANK1が細胞分裂の異常を引き起こすことによりがん化が進むという仮説をを証明する。

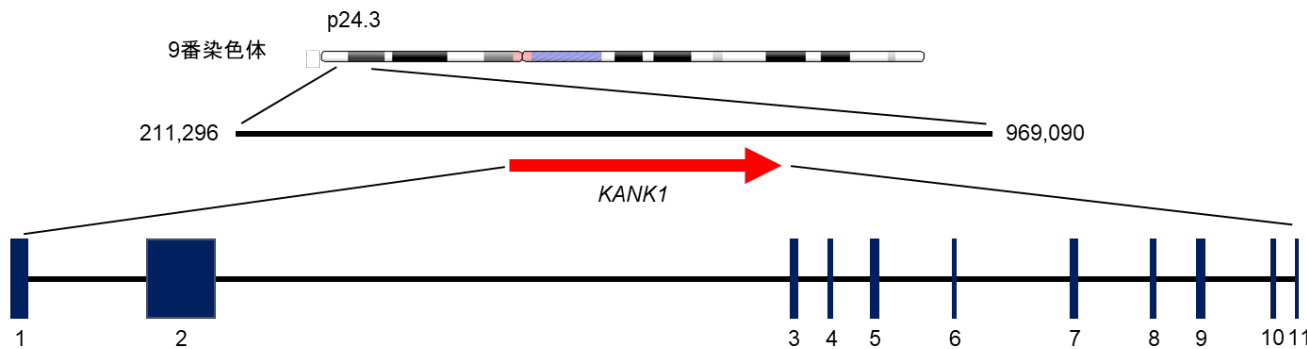
本研究では、以下の点を進めた

- ① RNAiを用いてHEK293細胞（ヒト胎児腎細胞由来）のKANK1をノックダウンして細胞の表現型の観察をする。
- ② CRISPR/Cas9によるゲノム編集技術を利用して、HEK293細胞のKANK1ノックアウト細胞を作成して、その細胞の細胞分裂を観察し、分裂異常のメカニズムを検討する。

背景

KANK1 とは

- ・ヒトの9番染色体にマップされた腎細胞のがん抑制遺伝子
- ・KANK1 からKANK4 まで4つの遺伝子から成る遺伝子ファミリーを構成する遺伝子
- ・低分子量Gタンパク質（Rhoファミリーなど）と協調し、細胞増殖、細胞骨格、細胞運動、核/細胞質内輸送などに関与



結果のまとめ

- ① RNAiによる*KANK1*ノックダウンの結果
 - ・ *KANK1*をノックダウンした細胞では、分裂期と間期において中心体の数の異常が確認できた。
- ② CRISPR/Cas9 (RNP) による*KANK1*ノックアウトの結果
 - ・ gRNA・Cas9タンパク質の複合体 (RNP) を用いたゲノム編集は、クローニングした細胞のゲノムDNAのシーケンス解析結果から変異が導入されていないことが分かった。
- ③ CRISPR/Cas9 (プラスミドgRNA) による*KANK1*ノックアウトの結果
 - ・ プラスミドgRNAを用いたゲノム編集では、gRNA導入後にGFP発現した細胞がありgRNAの導入が確認できた。

考察

- *KANK1*をノックダウンすると、細胞の分裂期と間期の両方で中心体の数の異常が起こったことから、*KANK1*が細胞の周期に関わらず中心体の複製・分配などの他の機能に関与していると考えられる。
- gRNA・Cas9タンパク質の複合体（RNP）を用いたゲノム編集では、変異が導入されていないことが分かった。これは、RNPの細胞への導入効率かあるいはDNAの変異導入効率が低い可能性が考えられる。
- プラスミドを用いたゲノム編集を行うため、GFPを発現するプラスミドを用いて導入効率を検討した。エレクトロポレーション法とトランスフェクション法のどちらも細胞内へのプラスミドgRNAの導入が確認できた。しかし、Resolvase酵素を使用した変異導入の確認では変異の確認ができなかった。一方で、GFPを導入した細胞を蛍光観察したところ、細胞への導入は確認できたものの、導入効率がまだ低いと考えられる。

指導教員コメント

本研究で得られた成果により、がん化における遺伝子と細胞分裂異常との関係について新たな知見が得られ、がん化のメカニズムについて重要な情報が得られたと考える。今後、さらなる研究により医療の分野に貢献できるものと期待する。

木山亮一