

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 4 月 1 日現在

機関番号：17301

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2009 ～ 2011

課題番号：21390085

研究課題名（和文）：ヒストン翻訳後修飾のクロストークと遺伝子転写開始制御

研究課題名（英文）：Post-translational histone modification and transcriptional regulation.

研究代表者

氏名 伊藤 敬 (ITO TAKASHI)

長崎大学・大学院医歯薬学総合研究科・教授

研究者番号：90306275

研究成果の概要（和文）：

真核細胞のゲノムはクロマチンと呼ばれる DNA 高次構造に折りたたまれ、多彩な機構を働かせ、多くの重要な生物学的な現象と関連する。クロマチン構造のコアヒストンの翻訳後修飾はアミノ末端やカルボキシ末端を中心に引き起こされ、遺伝子転写調節と関連する。我々はこの研究でヒストン H2A のユビキチン化がヒストン H3K4 のメチル化を抑制することにより遺伝子転写抑制していることを明らかにした。すなわちヒストン翻訳後修飾の相互クロストークが転写調節因子および共役因子による遺伝子転写開始に重要な役割を担い遺伝子転写開始におけるヒストンの翻訳後修飾とクロマチン構造の役割の一端を解明した。

研究成果の概要（英文）：

The genome of the eukaryote is packaged into chromatin, which permits dynamic and broad-ranging changes related to many important biological phenomena. Diverse posttranslational modifications of the core histones occur, often on the tail domains and related to transcriptional regulation. In this project we identified that histone H2A ubiquitylation inhibits histone H3K4 methylation resulting in transcriptional repression. Thus we clarified the role of histone modification and chromatin structure, which related to transcriptional regulation.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	5,400,000	1,620,000	7,020,000
2010 年度	4,800,000	1,440,000	6,240,000
2011 年度	4,200,000	1,260,000	5,460,000
年度			
年度			
総計	14,400,000	4,320,000	18,720,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・医化学一般

キーワード：DNA 高次構造、アセチル化、エピジェネティクス、クロマチン、ヌクレオソーム、ヒストン、ユビキチン化、リン酸化、遺伝子転写

## 1. 研究開始当初の背景

真核細胞は遺伝情報を安定に保ち、正確に発現し、細胞分化を維持するため、多彩な機構を働かせている。その中の1つがクロマチンと呼ばれる DNA 高次構造である。クロマチン構造の最小単位はヌクレオソーム構造で、ヌクレオソームはゲノムにおける様々な生物学的現象に伴い、ダイナミックに変化する。

我々は遺伝子転写の際に、ヌクレオソームが、その構成成分であるコアヒストンのアセチル化により流動化することを明らかにした (Genes Dev 14: 1899-1907, 2000)。コアヒストンの修飾にはアセチル化に加え、ユビキチン化、リン酸化やメチル化等が知られ、その実体と生物学的な意義が国内外でしのぎを削り研究されている。我々は特にヒストンのリン酸化とユビキチン化、メチル化による遺伝子発現の調節に焦点を絞っている。ヒストンのアセチル化及びメチル化は遺伝子発現の共役因子として働くことが示されたが、詳細な調節の機構はいまだに未知の部分が多い。

## 2. 研究の目的

この研究の目的は、遺伝子転写開始におけるヒストンの翻訳後修飾とクロマチン構造の役割を解明することである。特にヒストン H2A のユビキチン化とヒストン H3K4 のメチル化がどのように関連して転写制御を行っているかを明らかにする。ヒストン翻訳後修飾の相互クロストークが転写調節因子および共役因子による遺伝子転写開始にどのような役割を担い、どのようなクロマチン構造変換を引き起こすかを明らかにすることである。

## 3. 研究の方法

ヒストン H2A 脱ユビキチン化とヒストン H3K4 メチル化のクロストークの機構解析を行う

哺乳類肝臓切除後には肝臓再生と関連した劇的な遺伝子発現の変化があり、この変化と H2A のユビキチン化の変化を調べると、H2A のユビキチン化は遺伝子転写抑制に関与していることが明らかにできる。ヒストン H2A 脱ユビキチン化とヒストン H3K4 メチル化のクロストークの機構を *in vitro* 転写により明らかにする。

メチル化酵素 MLL3 はマウス肝臓から H3K4 のメチル化を指標に 3 種類のカラムで部分精製し質量分析で同定する。さらにこの分画に未知の因子が混在するかどうかを、カラムクロマトグラフィーにより MLL3 をさらに精製し明らかにする。精製 MLL3 中にユビキチン化ヒストンに親和性のあるペプチドが混在するか否かを親和性クロマトグラフィーと蛋白質電気泳動により明らかにする。また MLL3 の精製を進めることによりメチル化酵素自体のユビキチン化ヌクレオソームへの親和性、基質特異性も確認できる。

## 4. 研究成果

マウス肝臓再生のモデルを用いてヒストン H2AC 末端の翻訳後修飾と肝臓再生の関連を明らかにした。マウス肝臓は再生を始めると、劇的に肝細胞クロマチン中のヒストン H2A のユビキチン化は減少する。発現マイクロアレイを用いてこの脱ユビキチン化と関連した脱ユビキチン化酵素 USP21 を明らかにした。さらに脱ユビキチン化酵素 USP21 は肝切除後遺伝子転写の上昇する遺伝子プロモーター領域の脱ユビキチン化を促進することによ

り遺伝子転写発現を刺激することを明らかにした。マウス肝臓再生は劇的な遺伝子変化を伴いこれらの遺伝子変化は肝臓の再生に重要である。

さらに肝臓再生のモデルを用いてヒストンの翻訳後修飾と遺伝子転写、生物学的な現象の関連を明らかにした。肝臓再生後転写が上昇する遺伝子プロモータ領域においては、USP21 によるプロモータ領域の脱ユビキチン化が引き起こされる。引き続いて脱ユビキチン化はヒストンH3メチル化酵素 MLL3 によるヒストン H3K4 のメチル化を引き起こす。ユビキチン化ヒストンH2AはMLL3の酵素活性を抑制することにより H3K4 のメチル化を低下させ転写を抑制する。ヒストンの翻訳後修飾はネットワークを作り、ネットワーク内のクロストークによりカスケードが形成され、肝再生に必要な遺伝子のプロモータ領域の脱ユビキチン化が引き起こされると、肝再生に必要な遺伝子のプロモーター領域のヒストン H3K4 のメチル化を引き起こし転写が開始される (Genes Dev 22: 37-49, 2008)。またこの時 ZRF1 がユビキチン化による遺伝子転写抑制をキャンセルすることを *in vitro* で明らかにした (Nature 468, 1124-1128, 2009)。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計6件)

Shindo, H., Yasui, K., Yamamoto, K., Honma, K., Yui, K., Kohno, T., Ma, Y., Chua, K. J., Kubo, Y., Aihara, H., Ito T., Nagayasu T, Matsuyama T, Hayashi H. (2011). Interferon regulatory factor-4 activates IL-2 and IL-4 promoters in cooperation with c-Rel. Cytokine 56, 564-572.

Katoh Y, Ikura T, Hoshikawa Y, Tashiro S, Ito T., Ohta M, Kera Y, Noda T, Igarashi K. 2011. Methionine Adenosyltransferase II Serves as a Transcriptional Corepressor of Maf Oncoprotein. Mol Cell 41: 554-566.

Richly H, Rocha-Viegas L, Ribeiro JD, Demajo S, Gundem G, Lopez-Bigas N, Nakagawa T. Rospert S, Ito T., Di Croce L. 2010. Transcriptional activation of polycomb-repressed genes by ZRF1. Nature 468: 1124-1128.

Lancaster OM, Breuer M, Cullen CF, Ito T., Ohkura H. 2010. The meiotic recombination checkpoint suppresses NHK-1 kinase to prevent reorganisation of the oocyte nucleus in Drosophila. PLoS Genet 6: e1001179.

Higashi M, Inoue S, Ito T. 2010. Core histone H2A ubiquitylation and transcriptional regulation. Exp Cell Res 316: 2707-2712.

伊藤敬 ヒストンH2Aのユビキチン化と遺伝子転写抑制 生化学 Vol 82, 232-236, 2010

[学会発表] (計5件)

第34回日本分子生物学会年会

会期:2011年12月13日(火)~16日(金)

会場:パシフィコ横浜

2W2p II -1 Histone modification and transcriptional regulation

Takashi Ito (Nagasaki University School of Medicine)

2P0315 Structural analysis of nucleosome assembly protein

Keisuke Hamada<sup>1</sup>, Masaaki Shiina<sup>1</sup>, Risa

Nakashimal, Makoto Saito1, Takashi Ito2, Kazuhiro Ogata1((1 dept of Biochem. Yokohama City Univ. School of Medicine, 2 Nagasaki University School of Medicine)

2p0469 Interferon regulatory factor-4 activates IL-2 and IL-4 promoters in cooperation with c-Rel.

33 回日本分子生物学会年会・第 83 回日本生化学会大会 合同大会  
Biochemistry and Molecular Biology(BMB) 2010, 2010年12月7日(火)～10日(金) 会場：神戸ポートアイランド

3W20-1 Histone Modifications and Transcriptional Regulation  
Takashi Ito (Nagasaki University School of Medicine)

第 82 回日本生化学会大会  
The 82nd Annual Meeting of the Japanese Biochemical Society  
神戸ポートアイランド 2009 年 10 月 21 日(水)～24日(土)

1S11p-1 ヒストン翻訳後修飾と遺伝子転写

伊藤敬 (長崎大学医学部生化学)  
Histone Modification and Transcriptional Regulation  
Takashi Ito (Dept of Biochem. Nagasaki Univ. School of Med.)

〔図書〕(計 0 件)

該当なし

〔産業財産権〕

○出願状況(計 0 件)

該当なし

○取得状況(計◇件)

名称：

発明者：伊藤敬

権利者：伊藤敬、大鵬薬品工業株式会社

種類：

番号：特願 2003-08415

取得年月日：平成 21 年 10 月 23 日

国内外の別：

〔その他〕

<http://www.med.nagasaki-u.ac.jp/bioc/hem/>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

氏名 伊藤 敬 (ITO TAKASHI)

長崎大学・大学院医歯薬学総合研究科・教授

研究者番号：90306275

### (2) 研究分担者

氏名 中川武弥 (NAKAGAWA TAKEYA)

長崎大学・大学院医歯薬学総合研究科・助教

研究者番号：50363502

氏名 水崎博文 (MIZUSAKI HIROFUMI)

長崎大学・大学院医歯薬学総合研究科・助教

研究者番号：40467957