

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 18 日現在

機関番号：23803

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2016

課題番号：25430168

研究課題名(和文) 染色体構造とゲノム配列の統合にもとづく新規エピゲノム解析法の開発

研究課題名(英文) Methods and strategies to determine epigenetic variation in human disease: association with R/G-band boundaries on human chromosomes

研究代表者

渡邊 良久 (Watanabe, Yoshihisa)

静岡県立大学・薬学部・客員共同研究員

研究者番号：00362187

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：染色体構造とゲノム配列の統合を目指した研究から、ヒト染色体の構造的クロマチン境界と考えられる“染色体バンド境界”を塩基配列レベルで特定し、その境界領域には、がん関連遺伝子群や脳神経疾患遺伝子群が集中して局在するという結果を得た。

本研究においては、これまでの我々の研究グループによる研究成果をもとに開発したヒト染色体“バンド境界”の網羅的なヒトゲノムマッピングにもとづく新規エピゲノム解析法の有効性を実証できた。最終的に、ヒトゲノムの“染色体バンド境界地図”を細胞間で比較解析することは、エピジェネティックな変化を起こしたゲノム部位を網羅的に特定する有効な手段になることを実証することができた。

研究成果の概要(英文)：The human genome is composed of large-scale compartmentalized structures resulting from variations in the amount of guanine and cytosine residues (GC%) and in the timing of DNA replication. These compartmentalized structures are related to the light- and dark-staining bands along chromosomes after the appropriate staining. We propose that R/G-chromosomal boundaries, which correspond to regions showing a switch in replication timing from early to late S phase (early/late-switch regions) and of transition in GC%, have an extremely low number of replication origins and more non-B-form DNA structures than other genomic regions. Further, we suggest that genes located at R/G boundaries and which contain such DNA sequences have an increased risk of genetic instability and of being associated with human diseases. Finally, we propose strategies for genome and epigenome analyses based on R/G boundaries.

研究分野：分子遺伝学

キーワード：染色体バンド DNA複製

1. 研究開始当初の背景

ヒトをはじめとする高等動物の染色体バンド領域は、S 期内の複製タイミングや GC 含量の Mb レベルの区分構造に関係しており、遺伝子密度や発現様式を異にしたゲノムの機能ドメインと考えられるようになってきた。我々の研究グループは、これまで染色体構造とゲノム配列の統合を目指して、ヒトゲノム複製タイミングの解析を塩基配列レベルで行ってきた。

その結果、S 期前半と後半の複製領域が染色体の R-バンドと G-バンドの各領域に対応することが判明し、複製タイミングが S 期前半から後半に明瞭に転換している領域を塩基配列レベルで特定できた。GC 含量の区分境界と複製タイミングの転換領域とが密接に関係することも明らかになり、これらの転換部位を R-バンドと G-バンドの境界領域 (R/G-バンド境界) の構造上ならびに機能上の要件を満たす部位として塩基配列レベルで特定できた。また、特定した R/G-バンド境界には病因遺伝子、特になんがん関連遺伝子および脳神経疾患遺伝子が集中して存在するとの予想外の知見を得た。さらに、R/G-バンド境界は、SNP の高頻度領域や DNA 増幅領域 (amplicon) に対応しており、染色体異常を起こしやすいゲノム不安定化部位であることを明らかにした。我々の研究グループによるヒト染色体バンド境界に関する一連の研究結果は、以前に、Nature Reviews Genetics 誌 (Göndör and Ohlsson 2009) のエピジェネティクス関連の総説の中で、我々の発表した学術論文 3 報 (Watanabe et al. 2002, 2004, 2007) が引用され、その内容が詳細に紹介された。また、我々の研究グループは、その一連の研究結果を、エピジェネティクス関連の分担著書 Epigenetics in human disease (First edition 2012) の中で、染色体バンド構造とゲノム配列の統合にもとづく新規エピゲノム解析法として提案ならびに紹介した。

2. 研究の目的

本研究においては、これまでの我々の研究グループによる研究成果をもとに、ヒト染色体“バンド境界”の網羅的なヒトゲノムマッピングにもとづく新規エピゲノム解析法の有効性を検証する。最終的に、ヒトゲノムの“染色体バンド境界地図”を細胞間で比較解析することは、エピジェネティックな変化を起こしたゲノム部位を網羅的に特定する有効な手段になることを実証する。

具体的には、新規エピゲノム解析法の有

効性を実証するため、各種ヒト由来細胞系を用いて、ヒトゲノム上に“染色体バンド境界”を網羅的にマッピングする。その結果、ヒトゲノムの“染色体バンド境界地図”を作成し、細胞間で比較解析する。また、遺伝子発現やエピジェネティクスな状態との対応関係を明らかにする。最終的に、ヒトゲノムの“染色体バンド境界地図”を細胞間で比較解析することは、エピジェネティック変化したゲノム部位を網羅的に特定する有効な手段になることを実証する。

また、本研究結果から、ヒト染色体の構造的クロマチン境界と考えられる“染色体バンド境界”は、細胞型特異的遺伝子発現の分子機構と密接に関連した機能を併せもつ“ハイリスク・ハイリターン”ともいふべき特徴を備えている重要な染色体機能領域であることを実証する。

3. 研究の方法

ヒトの各種臓器由来細胞系ならびに薬剤処理した細胞系を用いて、DNA 複製タイミングを指標に、ヒトゲノムの“染色体バンド境界地図”を作成し、バンド境界の位置が変化したゲノム部位を網羅的に特定する。また、ゲノム網羅的な遺伝子発現解析ならびに DNA メチル化解析を行い、“染色体バンド境界地図”との相関解析を行う。

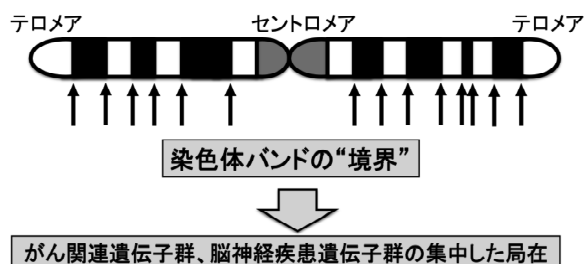
4. 研究成果

(1) ヒトゲノム“染色体バンド境界地図”を細胞間で比較解析することは、エピジェネティックに変化したゲノム部位を網羅的に特定する有効な手段になることを実証できた。

(2) 染色体 R/G-バンド境界は、ゲノム不安定化部位であると同時に、がん関連遺伝子や脳神経疾患遺伝子群が集中して局在していることから、その遺伝子機能と密接に関連した“ハイリスク・ハイリターン”ともいふべき特徴を備えている重要なゲノム領域であることが明らかにした (図 1)。また、セントロメアならびにテロメア領域と同様に、機能を持った新規の非コード DNA 領域として重要な機能領域であることが判明した。

(3) ヒト染色体の構造的クロマチン境界と考えられる“R/G-バンド境界”を指標にして、がんや脳神経疾患などの異なる疾患の発症の分子機構を統合的に理解できることが示唆された。

図1. ヒト染色体“バンド境界”の網羅的ゲノムマッピング



5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 4 件)

1. Watanabe, Y. and Maekawa, M.
Epigenetic basis of neuronal plasticity: association with R/G-band boundaries on human chromosomes. *Neuroepigenetics*, vol. 7, 1-6 (2016)
doi.org/10.1016/j.nepig.2016.08.001
2. Zhan, F., Watanabe, Y., Shimoda, A., Hamada, E., Kobayashi, Y., Maekawa, M.
Evaluation of serum bone alkaline phosphatase activity in patients with liver disease: comparison between electrophoresis and chemiluminescent enzyme immunoassay. *Clinica Chimica Acta*, vol. 460, 40-45 (2016)
doi.org/10.1016/j.cca.2016.06.008
3. 渡辺良久: 疾患エピゲノムの新展開: 脳神経疾患と神経可塑性との関連. *臨床化学* vol. 44, pp154-155, 2015.
4. Watanabe, Y., Shibata K. and Maekawa, M. Cell line differences in replication timing of human glutamate receptor genes and other large genes associated with neural disease. *Epigenetics*, vol. 9, 1350-1359 (2014)
doi: 104161/15592294.2014.967585

[学会発表] (計 3 件)

1. 渡辺良久, 前川真人: 脳神経疾患遺伝子群のエピゲノム解析: DNA 複製タイミングならびに染色体バンド構造との関連、第 55 回日本臨床化学会年次学術集会、2015 年 10 月 31 日、大阪.
2. 渡辺良久, 前川真人: 脳神経疾患遺伝子群が局在するゲノム領域のエピジェネティック解析、第 21 回日本遺伝子診療学会大会、2014 年 11 月 22 日、東京.
3. 渡辺良久, 前川真人: 脳神経疾患遺伝子群が局在する染色体領域のエピゲノム解析、第 54 回日本臨床化学会年次学術集会、2014 年 9 月 5 日、東京.

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
国内外の別:

○取得状況 (計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
取得年月日:
国内外の別:

[その他]
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

渡邊 良久 (WATANABE Yoshihisa)
静岡県立大学・薬学部・客員共同研究員
研究者番号：00362187

(2) 研究分担者

前川 真人 (MAEKAWA Masato)
浜松医科大学・医学部・教授
研究者番号：20190291

(3) 連携研究者

(4) 研究協力者