

機関番号：35302
 研究種目：若手研究(B)
 研究期間：2009～2010
 課題番号：21770192
 研究課題名(和文) メディエーターおよびヌクレオソームによる HSP 遺伝子の転写制御に関する研究
 研究課題名(英文) Relationship between mediator recruitment and transcriptional activity in the yeast heat shock protein.
 研究代表者
 橋川 直也 (HASHIKAWA NAOYA)
 岡山理科大学・理学部・講師
 研究者番号：60434982

研究成果の概要(和文)：

熱ショックタンパク質(HSP)はストレス応答において中心的な役割を果たしている。HSP 遺伝子のプロモーター領域には HSE という配列が存在し、転写調節因子の一つである HSF がそこに結合することにより HSP の転写は制御されている。

また、酵母においてメディエーターはほとんどの遺伝子の転写に必要とされているコアクチベーターである。

今回、HSE 配列の違いにより、メディエーターの必要性が変化することを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：

HSP play a center role in the stress response. The promoter of HSP gene exist HSE sequence, HSF protein binds to HSE and regulates transcription of HSP.

Mediator is a multiprotein complex that functions as a transcriptional coactivator. Mediator complex is required for the successful transcription of nearly all gene regulated RNA polymerase II in yeast.

In this study, we revealed that the necessity of mediator changed by the difference of HSE sequence.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	2,600,000	780,000	3,380,000
2010 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：生物科学・分子生物学

キーワード：転写、HSP、HSE

1. 研究開始当初の背景

熱ショックなどのストレスに応答する転写調節因子の一つとして熱ショック転写因子(HSF)がある。HSFは、ストレス応答において中心的に働く熱ショックタンパク質群(HSP)の発現を制御している。HSPに

はたくさんの種類が存在するが、必要なときに必要な HSP を合成する為のシステムの詳細は明らかになっていない。HSP 遺伝子のプロモーター領域には HSF が結合する HSE 配列が存在し、HSE の配列の違いがそれぞれの HSP 遺伝子転写調節の鍵となると考えられ

る。

2. 研究の目的

HSE 配列特異性による転写調節がどのように転写装置に伝達されるかということ明らかにするために、コアクチベーターとの結合、ヌクレオソームの構造変化について解析を行う。

3. 研究の方法

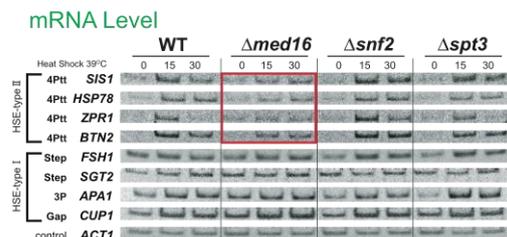
メディエーターコンプレックスを構成する *MED16*, *MED17*, *MED18* 破壊株、および HAT 活性を持つ *GCN5* 破壊株、ヒストンリモデリング因子の一つである *SNF2* 破壊株を作製し、野生株とそれぞれの破壊株での *HSP* 遺伝子発現を比較する。また、クロマチン免疫沈降法をおこないそれぞれの *HSP* 遺伝子でのコアクチベーターのリクルートメントについて解析する。

4. 研究成果

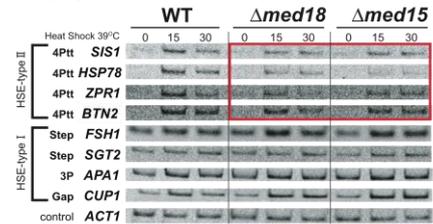
熱ショック転写因子 (HSF) は、熱ショックタンパク質群 (HSP) の発現を制御する転写調節タンパク質である。HSF は HSP プロモーターの HSE に三量体で結合する。HSE には三量体が一つ結合するタイプ (HSE-type I) と 2 つ以上結合するタイプ (HSE-type II) がある。

酵母 *Hsf1* では、三量体形成と、ストレスに伴うリン酸化が、HSE-type I を介した転写活性化に必須である。ところが、HSE-type II を介した活性化には、三量体形成領域もリン酸化も不要である。一方、真核生物の転写には、コアクチベーターとして機能するメディエーター、SAGA (HAT 複合体)、および *Swi/Snf* (ヒストンリモデリング因子) などが必要である。HSE タイプ特異的な転写調節にどの複合体が関連するのかを明らかにするため、それぞれの複合体の構成タンパクをコードする *MED16* (メディエーター)、*SPT3* (SAGA)、*SNF2* (*Swi/Snf*) の破壊株を作成し、*HSP* 遺伝子の mRNA を測定した。

MED16 破壊株では、HSE-type II を持つ *HSP* 遺伝子の転写が顕著に低下したが、*SPT3* や *SNF2* の破壊株では、転写活性化は正常であった。



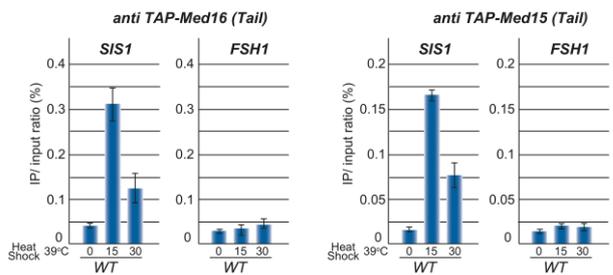
mRNA Level



また ChIP 法を用いた解析より、HSE-type I を持つ遺伝子には *Med16* などのメディエーター構成タンパクがリクルートされることが明らかになった。

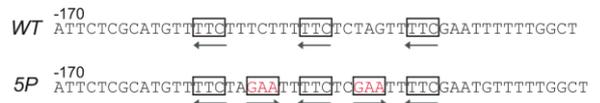
Mediator のリクルートメント

ChIP assay

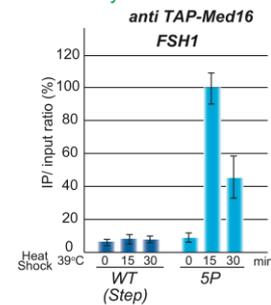


また、HSE-type II を HSE-type I に置換した *HSP* 遺伝子においても同様の結果となった。

FSH1 (HSE-type I)



ChIP assay



これらの結果より、HSE 配列に応じてメディエーターの必要性が変化し、遺伝子特異的な転写調節が起こると示唆された。

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 2 件)

1. Hobara N, Goda M, Hashikawa N, Jin X, Zamami Y, Takatori S, Kawasaki H.

Role of angiotensin receptors in remodeling perivascular nerves.

Yakugaku Zasshi. 2010 Nov;130(11):1421-5.

2. Hobara N, Goda M, Yoshida N, Hashikawa N, Kawasaki H.

Regeneration of perivascular nerve and role of angiotensin receptors.

Yakugaku Zasshi. 2010 Sep;130(9):1189-95.

[学会発表] (計 12 件)

1. 橋川成美、橋川直也、由谷親夫、座間味義人、高取真吾、見尾光庸、川崎博己

アポE欠損マウスにおけるアンジオテンシンII型受容体を介したNGF誘導神経慎重作用
第84回日本薬理学会年会、横浜、3.22-24, 2011

2. 和家祥大、牧野聖人、藤原弘喜、橋川成美、橋川直也、高取真吾、川崎博己

マウス腸間膜動脈血管床における血管内皮由来弛緩反応の解析
第84回日本薬理学会年会、横浜、3.22-24, 2011

3. 井上祐輔、浅野勇人、橋川直也、橋川成美
NGF誘導の神経突起伸長におけるインスリン抵抗性の影響

第84回日本薬理学会年会、横浜、3.22-24, 2011

4. 井上祐輔、浅野勇人、橋川直也、橋川成美
インスリン抵抗性モデルラットにおける神経伸長作用の検討

第21回霧島神経薬理フォーラム、神戸、8.20-22, 2010

5. Hashikawa N, Hobara N, Yutan C.

Relation of HSPs expression and formation of atherosclerotic lesions in the aorta of ApoE-deficient mice

16thWorld Congress of Basic and Clinical Pharmacology, Copenhagen Denmark, 2010 July 17-23

6. Hobara N, Hashikawa N, Zamami Y, Kawasaki H.

Angiotensin 2 type 2 receptor activation modulates insulin receptor signaling pathways in

adult sensory neurons

16thWorld Congress of Basic and Clinical Pharmacology, Copenhagen Denmark, 2010 July

7. 芳原成美、橋川直也、川崎博己

アポE欠損マウスにおけるNGF神経軸索伸長のアンジオテンシンII型受容体の役割
第83回日本薬理学会年会、大阪、3.18, 2010

8. Hashikawa N, Hobara N, Yutan C.

Relation of atherosclerosis and heat shock proteins in apoE deficient mice

第32回日本分子生物学会年会、横浜、12.9, 2009

9. 田中千春、橋川直也、石橋広太郎、成谷宏文、片山 誠一

Clostridium perfringensのホスホリパーゼC遺伝子上流に存在する phased A-tracts の役割
第32回日本分子生物学会年会、横浜、12.9, 2009

10. 日野隼人、芳原成美、橋川直也、川崎博己

神経成長因子 (NGF) による交感神経初代培養細胞の神経伸長におけるアンジオテンシンII受容体の関与
第48回中国四国支部学術大会 徳島市、11.7-8, 2009

11. 芳原成美、橋川直也、由谷親夫、川崎博己

ApoE ノックアウトマウス脊髄後根神経節におけるAT2受容体の機能的役割
第115回日本薬理学会近畿部会、金沢、6.26, 2009

12. Narumi Hobara, Naoya Hashikawa, Chikao Yutani and Hiromu Kawasaki

Effect of Angiotensin 2 type 2 receptors on calcitonin gene-related peptide (CGRP) neuritis outgrowth in ApoE deficient mice

10th International Symposium on Mechanisms of Vasodilatation 6.1-3, 2009

6. 研究組織

(1) 研究代表者

橋川 直也 (HASHIKAWA NAOYA)

岡山理科大学・理学部・講師

研究者番号：60434982