

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5月25日現在

機関番号：72602

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2011

課題番号：22770002

研究課題名（和文） ヒストンバリエント H2A. Z 置換の分子基盤の解明

研究課題名（英文） Analysis of molecular mechanism in H2A. Z replacement

研究代表者

田辺 真彦（TANABE MASAHIKO）

公益財団法人がん研究会・有明病院乳腺外科・医員

研究者番号：30572333

研究成果の概要（和文）：ヒストンバリエント H2A.Z の機能解析を目的として、ショウジョウバエを用いた遺伝学的スクリーニングを行い、H2A.Z と遺伝学的相互作用を示す遺伝子を複数同定した。さらに、同定された遺伝子の一つに着目し、H2A.Z との相互作用について解析を行った。その結果、遺伝子プロモーター上で、H2A.Z と共局在する可能性があることが示唆された。

研究成果の概要（英文）：We performed genetical screening by use of *Drosophila* system to identify the new factors which would reveal the molecular function of H2A.Z. We identified several genes. It was suggested that one of them would co-localize with H2A.Z on promoter area of genes.

交付決定額

（金額単位：円）

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|--------|-----------|---------|-----------|
| 2010年度 | 1,700,000 | 510,000 | 2,210,000 |
| 2011年度 | 1,600,000 | 480,000 | 2,080,000 |
| 年度 | | | |
| 年度 | | | |
| 年度 | | | |
| 総計 | 3,300,000 | 990,000 | 4,290,000 |

研究分野：遺伝

科研費の分科・細目：ゲノム動態

キーワード：ゲノム機能・発現、ヒストンバリエント

1. 研究開始当初の背景

真核生物の染色体構造は、DNA およびヒストン八量体からなるヌクレオソームを基本単位としたクロマチン高次構造を形成している。各ヒストンの N 末テイル、C 末テイルはアセチル化、メチル化などの化学修飾を受け、クロマチン構造や遺伝子発現を制御する。ヒストンの様々な化学修飾や、化学修飾の組み合わせは、遺伝子配列の変化を伴わない遺伝情報の記憶と発現の暗号となることが明らかとなり、総じて「エピジェネティック

ス」という概念で理解されている (Jenuwein and Allis, 2001, Science)。

ヒストン八量体を形成するカノニカル・ヒストン H2A, H2B, H3, H4 は、細胞分裂 S 期に生合成され、主に DNA 複製時に染色体に取り込まれる。これらカノニカル・ヒストンは、転写、DNA 複製、DNA 損傷修復をはじめとするクロマチンリモデリングの過程において、「H2A-H2B ヘテロダイマー」や「H3-H4 テトラマー」の形でヌクレオソームから外れることが知られている。また、カノニカル・ヒストンと置き換わり、複製非依存

的にヌクレオソームに取り込まれる「バリエント・ヒストン」が存在することが知られている(Henikoff and Ahmad,2005,Annu Rev Cell Dev Biol)。

近年、カノニカル・ヒストンからバリエント・ヒストンへの置換もまた、クロマチン構造や遺伝子発現を制御することが報告され、動的かつ劇的なエピジェネティクス制御機構であることが明らかとなりつつある(Jin et al., 2005, Trends Biochem Sci)。しかしながら、カノニカル・ヒストンの化学修飾に比べ、バリエント・ヒストンへの動的なヒストン置換の意義には不明な点が多い。近年、「H2A.Z 過剰発現」と「乳癌の進行・増悪」との関連が示唆された。

2. 研究の目的

本研究では、ショウジョウバエの分子遺伝学を応用したスクリーニングにより、酵母や培養細胞を用いた研究では同定できなかった、動的ヒストン置換を担う「鍵因子」を取得することを目指す。さらに、新規「鍵因子」の機能解析を通じて、動的な H2A.Z 置換反応の分子基盤を明らかにし、生体内における H2A.Z 置換の意義を解明することを目的とする。

3. 研究の方法

(1) 1次スクリーニング・・・H2AvD 新規相互作用因子の探索を目的として、「H2AvD 変異体発現ショウジョウバエ」と「遺伝子欠損ライブラリー・ショウジョウバエ」との交配による 1 次スクリーニングを行い、「H2AvD 変異体発現ショウジョウバエ」個体の表現型に変化を与える「遺伝子欠損領域」を同定する。

(2) 2次スクリーニング・・・上記「遺伝子欠損領域」に含まれる遺伝子ごとに「遺伝子変異ショウジョウバエ、あるいは、RNAi 発現(ノックダウン)ショウジョウバエ」×「H2AvD 変異体発現ショウジョウバエ」の交配を行う。

(3) 1次、2次スクリーニングにより、単離、同定された遺伝子の機能解析を行う。

4. 研究成果

(1) 1次、2次スクリーニングにより、単離、同定された遺伝子が「H2AvD 新規相互作用因子」の遺伝子の可能性を有するものである。以下に、同定されたハエ遺伝子名(ヒトホモログ)を示す。

CG6195 (developmentally regulated GTP binding protein 2), pecanex (pecanex), Aac11 (apoptosis inhibitor 5), CG11122,

sec24 (SEC24B), CG4646, bgm (acyl-CoA synthetase bubblugum family member), nuf, CG8026 (solute carrier family 25,member32), Mnf (myocyte nuclear factor, forkhead box K1), mRpL (mitochondrial ribosomal protein L43 isoform a), Ltd,brat (TRIM32)

(2) CG6195 (developmentally regulated GTP binding protein 2) の機能解析を行った。スクリーニングはショウジョウバエを用いたが、以後の解析は乳癌細胞株 MCF7 を用いて行った。

①DRG2 と H2A.Z は、遺伝学的相互作用を示したが、直接相互作用を示さなかった。

②DRG2 過剰発現細胞を樹立～大量培養し、DRG2 の直接相互作用因子の同定を目的としたタンパク質精製を行った。その結果、DRG2 が直接相互作用を示す因子を複数同定することに成功した。

③H2A.Z と DRG2、および、その相互作用因子を用いたクロマチン免疫沈降(ChIP)アッセイを行い、各因子がクロマチン上で共局在する可能性について検討した。また、各因子が共局在する可能性のあるプロモーターを ChIP on chip により同定した。

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 0 件)

〔学会発表〕(計 0 件)

〔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
なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

田辺 真彦 (TANABE MASAHIKO)
公益財団法人がん研究会
有明病院乳腺外科・医員
研究者番号：30572333

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし