

群馬大学生体調節研究所内分泌・代謝学共同研究拠点共同研究報告書

平成30年 4月27日

群馬大学生体調節研究所長 殿

所属機関名 東京大学アイソトープ総合センター  
職 名 准教授  
研究代表者 川村 猛

下記のとおり平成29年度の共同研究成果を報告します。

記

(課題番号:17001)

1. 共同研究課題名	脂肪細胞を用いたマルチバレントヒストン解析			
2. 共同研究目的	脂肪細胞分化における遺伝子発現制御に関わる複数のヒストン修飾からなるマルチバレント修飾を、質量分析を用いて解明する。			
3. 共同研究期間	平成29年 4月 1日 ~ 平成30年 3月31日			
4. 共同研究組織				
氏 名	所属部局等	職名等	役割分担	
(研究代表者)	アイソトープ総合センター	准教授	質量分析解析	
(分担研究者)	アイソトープ総合センター	特任研究員	質量分析解析、データ解析	
5. 群馬大学生体調節研究所の共同研究担当教員	分野名	代謝エピジェネティクス	氏 名	稲垣 毅

※ 次の6, 7, 8の項目は、枠幅を自由に変更できます。但し、6, 7, 8の項目全体では1頁に収めて下さい。

## 6. 共同研究計画

申請者と群馬大学生体調節研究所の稲垣教授のグループとの共同で、3T3-L1 脂肪細胞の分化過程前後におけるヒストンを精製し、制限酵素処理によってヒストン H3 テールを切断したのち、これを、オービトラップフュージョン質量分析計にかけ、ミドルダウン法もしくは H3K9 メチル化抗体による免疫沈降後にボトムアップ法を実施する。得られたデータは既存のソフトウェアと新規の解析プログラムを用いて解析し、ヒストンマルチバレント修飾を明らかにする。

## 7. 共同研究の成果

1. 脂肪細胞分化、ベージュ化を制御する新規ヒストン修飾解析を目的とし、本年度は、白色脂肪細胞を用いた複合的ヒストン修飾解析を実施した。白色脂肪細胞からヒストンを抽出し、質量分析にてヒストン H3 の特定のフラグメントで脂肪細胞分化に伴い異なる修飾パターンを呈することを見出した。
2. マルチバレントヒストン修飾の解析手法を立ち上げるため、白色脂肪細胞よりヒストンを精製し質量分析解析を行った。白色脂肪細胞のヒストンを 300-600ug 精製し、アルキル化処理後、トリプシン消化を行った。これらのヒストンをオービトラップ質量分析計を用い、データベース検索エンジン Mascot によりヒストン修飾の解析を行った。本年度は解析手法の立ち上げ、および mascot, 質量分析用定量ソフト Progenesis, 統計解析ソフト JMP を用いたヒストン H3 および H4 断片におけるヒストン修飾の同定方法を確立し、特定のヒストン修飾の同定に成功した。改善点として、現状では質量分析からのデータ解析までかなりの労力と時間を要するため、さらに効率的かつ特異性の高い解析手法にしていく必要があり、今後も検討を進める。

## 8. 共同研究成果の学会発表・研究論文発表状況

(本研究所の担当教員の氏名の記載のある論文, 又はこの共同研究に基づくとの記載のある論文等を記載して下さい。なお, 論文の場合は, 別刷りを1部提出して下さい。)

### ① 本研究所の担当教員の氏名の記載のある論文

なし

### ② この共同研究に基づくとの記載のある論文

なし