

様式3

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31年 4 月10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30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	白色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30年 4月 1日 ~ 平成31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) 川村 猛	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) 近岡 洋子	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分野	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

白色脂肪細胞の分化過程では、特定の分化関連遺伝子が時期特異的に発現する。これらの制御には、ヒストン修飾を含むエピゲノム制御が関与している。細胞の分化制御に関わるヒストン修飾については、これまで単一のヒストン修飾に注目した研究が広く行われてきた。一方、細胞分化初期において、ヒストンH3K4me3の転写活性化マークとヒストンH3K27me3の転写抑制マークが釣り合い、遺伝子発現を一時的に停止する機構が知られている(ヒストンビバレントマーク)。さらに、稲垣教授らのグループは、新規ビバレントマークを発見したことから(*Mol Cell* 2015)、白色脂肪細胞分化を理解するうえで、複数のヒストン修飾からなるマルチバレントヒストン修飾を解明することが重要であると考えた。しかしながら、マルチバレントヒストン修飾を解明する手法はこれまでほとんど行われていない。そのため、今回の共同研究では、新たな手法として質量分析を利用して、白色脂肪細胞のマルチバレントヒストン修飾を解明することを目的とした。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脂肪前駆細胞の分化過程前後におけるヒストンを精製し、消化酵素処理によってヒストンを切断したのち、これをオービトラップフュージョン質量分析計にかけ、セミボトムアップ法にて同一ヒストン内の複数のヒストン修飾を同定した。得られたデータは既存のソフトウェア(Mascot, progenesis, scaffold)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パターンの解析を行った。

7. 共同研究の成果

3T3-L1脂肪前駆細胞の分化前後のヒストン精製後の消化酵素処理により、H3のヒストン断片TKQTQR (H3 T3-R8)、KSTGGKAPR (H3 K9-R17)、KQLATKAAR (H3 K18-R26)、KSAPATGGVKK (H3 K27-K37)が安定して同定され、同一ヒストン断片内にH3K9とH3K14、H3K27とH3K36の組み合わせによるアセチル化、メチル化の組み合わせによるビバレント修飾が複数同定された。これに加え、H3Kのブチリル化、クロトンアルデヒド化、クロトニル化などのアシル化修飾が新規に検出された。本研究で用いているヒストン修飾の質量分析として多く用いられているセミボトムアップ法はサンプルの前処置にプロピオン酸による化学修飾が行われるが、この方法ではブチリル化、クロトンアルデヒド化、メチル化+プロピオニル化は同一質量であり判別できない。そこで、前処置で使用する無水プロピオン酸を<sup>13</sup>Cでラベルしたプロピオン酸の前処置へ変更しアシル化とメチル化修飾の区別が可能となるかを検討したところ、<sup>13</sup>Cプロピオン酸前処置が有用であることが確認され、新たな同定方法の確立に成功した。本法の確立によりメチル化が正確に検出できるようになった。加えてアシル化修飾をターゲットとしたヒストン修飾解析も手法についても確立し、スクシニル化等、他のアシル化修飾の同定も可能であることを確認した。

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部提出してください。)

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