

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

令和 2 年 4 月 30 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

下記のとおり令和元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31年 4月 1日 ~ 令和 2 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	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。

(課題番号: 17001)

6. 共同研究計画

白色脂肪細胞の分化を制御する時期特異的な特定の分化関連遺伝子発現の調節には、ヒストン修飾を含むエピゲノム機構が関与する。細胞の分化を制御するヒストン修飾については、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が、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による制御は未解明な点が多い。本計画では、マルチバレントヒストン修飾の解析のため、新たな手法として質量分析を利用し、白色脂肪細胞のマルチバレントヒストン修飾解明を目指す。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は共同して、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、ボトムアップ法を実施し、ソフトウェア (Mascot, Progenesis, Scaffold) の解析プログラムを用いて解析するためのプラットフォームを立ち上げてきた。このプラットフォームを用いてヒストンマルチバレント修飾パターンの解析を実施し、同一ヒストン内の複数のヒストン修飾を同定するとともに、脂肪細胞分化に関与する新規のヒストン修飾を同定する。本研究で用いる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。そのため、前処置に同位体ラベルプロピオン酸を使用する工夫を加えた新規の改変型同定法の確立に取り組み利用する。

7. 共同研究の成果

これまでに、分化前後の 3T3-L1 脂肪前駆細胞からヒストンを精製し、消化酵素処理をへて質量分析計にかけ、H3 のヒストン断片 T3-R8、K9-R17、K18-R26、K27-K37 を安定して同定することに成功した。この結果、同一ヒストン断片内に存在する H3K9 と H3K14、H3K27 と H3K36 におけるアセチル化、メチル化の組み合わせからなるディバレント修飾を同定した。さらに、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を新規に検出した。また、本共同研究で確立した 13C ラベルにプロピオン酸の前処置を用いた改良型セミボトムアップ法により、ブチリル化、クロトンアルデヒド化、メチル化+プロピオニル化の同一質量の物を異なるラベルにより判別できる条件で解析を重ねた。その結果、数十種におよぶヒストン修飾の組み合わせが見いだされ、脂肪細胞分化に伴い増加もしくは減少することを確認した。この成果は、再度の検証実験においても確認されており、ヒストン修飾の組み合わせのコンテキストによって脂肪細胞分化に関与する遺伝子の発現が制御されるという新たな分子機構を提示するものであった。現在、より詳細な遺伝子領域における検討へと進展している。

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