

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 3 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
職 名 特任研究員
研究代表者 近岡 洋子

下記のとおり令和2年度の共同研究成果を報告します。

記

(課題番号: 20015)

1. 共同研究課題名	細胞内エネルギー代謝を反映する新規ヒストン修飾の探索		
2. 共同研究目的	中性脂肪をエネルギーとして蓄積する白色脂肪は、寒冷時やアドレナリン刺激に反応してベージュ化し、中性脂肪などを燃焼して熱を産生する。しかし、このような細胞内エネルギー代謝状態の変化が、どのようなヒストン修飾を標的とすることで、細胞の性質制御に関与しているのかについては、未だ不明な点が多い。そのため、本研究では、生体調節研究所代謝エピジェネティクス分野稲垣研究室と共同して、各種の脂肪細胞系を用いて質量分析を利用した新規ヒストン修飾解析を実施し、解明する。		
3. 共同研究期間	令和 2 年 4 月 1 日 ~ 令和 4 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) 近岡洋子	東京大学アイソトープ総合センター	特任研究員	研究の総括
(分担研究者)			
5. 群馬大学生体調節研究所の共同研究担当教員	分野名	稲垣 毅	氏 名 代謝エピジェネティクス分野

※ 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

生体調節研究所代謝エピジェネティクス分野の稲垣教授のグループと共同して、白色脂肪細胞系、ベージュ脂肪細胞系の分化誘導を実施し、得られた細胞から、ヒストン精製キット(Active Motif 社)をもちいてヒストンを精製する。精製したヒストンは、SDS-PAGE ゲルに展開して質及び量の検証を実施し、充分な量(500 μ g 程度)のヒストンが得られたことを確認したのち、ヒストンテールを消化酵素で切断して質量分析サンプルを調整する。切断ヒストンテールは質量分析計にかけて解析し、既にエピゲノム修飾の質量がよく知られているメチル化修飾にくわえてアシル化修飾などについて、データベース検索エンジン MASCOT を利用して新規ヒストン修飾を同定する。定量化は質量分析用定量化ソフトウェア PROGENESIS を利用して解析する計画である。

7. 共同研究の成果

3T3-L1脂肪細胞分化過程の時系列(Day0,1,2,4,8)に沿って得られた細胞から精製したヒストンを質量分析に資し、各点 N=3 サンプルの条件で解析を実施した。はじめに、MASCOT による同定と PROGENESIS による定量化を実施し、十分な量が取得することが可能な修飾(アセチル化、メチル化、リン酸化等)を解析した。その結果、ヒストン H3 について、16 種類の単独修飾と 25 種類の組み合わせ修飾を同定定量化した。量的に少ないアシル化解析においては、MS/MS スペクトルのアミノ酸配列および修飾へのマッチングがあいまいとなるため、さらに MaxQuant を併用したマニュアル法による解析を実施した。これらの結果から、脂肪細胞分化と関連して量に変化するものとして、我々は特に K27-K37 bivalent modification に注目し、今後検証実験を行なっていく予定である。また、他の修飾とのクロストークや代謝との関連について理解を深める。

8. 共同研究成果の学会発表・研究論文発表状況及び本研究所担当教員との共同研究に関する情報交換(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

②この共同研究に基づくとの記載のある論文

③学会発表を行った主なもの3件以内(学会名、開催日、演題)

④本研究所担当教員と申請代表者との共同研究に関する情報交換の状況(主なやり取りを箇条書き)

令和2年12月23日 ZOOM で打ち合わせ

令和3年1月18日 ZOOM で打ち合わせ(来年度研究計画について)