

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 4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
職 名 特任研究員
研究代表者 近岡 洋子

下記のとおり令和3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	脂肪細胞におけるヒストン修飾の質量分析を用いた解析		
2. 共同研究目的	脂肪は可塑性の高い臓器であり、エネルギー環境に応じて性質を変化させる。たとえば中性脂肪をエネルギーとして蓄積する白色脂肪は、寒冷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産生を活性化させる。このような環境応答性の細胞性質変化には、エピゲノムが関わると考えられ、これまでいくつかのヒストンメチル化修飾の関与が報告されてきた。しかしながら、それらの異なるヒストン修飾の相互関係は不明な点が多い。最近、質量分析による手法を用いたヒストン修飾の解析から、複数の異なるヒストン修飾の相互関係が明らかになってきたため、本研究で解明を進める。		
3. 共同研究期間	令和3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	アイソトープ総合センター	職名: 特任研究員 学位: 博士(理学) 取得年月日: 2013. 3. 31	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	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:)

6. 共同研究計画

ヒストンは様々な修飾をうける。たとえば、リン酸化やメチル化・ユビキチン化やアシル化といった異なる化学修飾をうける。またヒストンのメチル化を例にとると、リジン(K)とアルギニン(R)がメチル化を受けることが知られており、前者は 3 つまでのメチル基が結合することができ(それぞれモノメチル、ジメチル、トリメチル)、後者には光学異性体が存在する。さらにメチル化を受けるヒストンのアミノ酸部位によって、近傍遺伝子領域における転写制御に与える影響(促進もしくは抑制)は異なる。このような複雑なヒストン修飾と遺伝子発現制御の関係性については、個別の関係性に注目した研究がおこなわれてきたが、相互関係性については不明な点が多い。そのため、本研究では質量分析を用いた相互関係性の検討を行う。とくにヒストンのメチル化修飾は、高い可塑性を維持しながらも化学的安定性が高いため、長期の細胞性質制御に適した機構であると考えられる。群馬大学生体調節研究所の稲垣教授らのグループとの共同研究においては、複数のヒストン修飾の相互関係が脂肪細胞分化過程に伴って変化するというデータが得られつつあり、昨年の解析結果から明らかになったヒストン H3 メチル化修飾の組み合わせについて解析を実施し、N 数を増やしての検証を実施することを計画した。

7. 共同研究の成果

分化過程の白色脂肪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し、消化酵素で切断して質量分析計にかけたデータについて、データベース検索エンジン MASCOT を利用したヒストン修飾の組み合わせ同定に取り組んだ。定量化は質量分析用定量化ソフトウェア PROGENESIS を利用して解析した。ヒストン修飾のメチル化修飾を質量分析で解析する上で同質量の修飾の判別ができない問題がある。すなわち、ヒストン修飾においては、モノメチル化とブチリル化、クロトンアルデヒド化の判別が不能であり、この問題を克服するため従来のヒストン断片の無水プロピオニル化を同位体試薬 ^{13}C 無水プロピオン酸へ改変し、質量分析を行った。本改変により、ヒストン修飾において重要なモノメチル化の同定が可能であることが確認された。

本改変法を用いて、白色脂肪細胞分化 0 日、1 日、2 日、4 日、8 日目のヒストン修飾の時系列データの解析を行った。昨年の解析の結果として見出したヒストン H3 メチル化修飾の組み合わせについて解析を実施し、N=3 の MASCOT によるヒストン修飾の質的データ、及び質量分析用定量化ソフトウェア PROGENESIS による量的データを得た。MASCOT による同定結果の正確性に関する検証を実施した結果、H3K27、K36、K37 のビバレント修飾があること、時系列データにおいて H3K27、K36、K37 の特定のメチル化修飾の組み合わせが分化の過程に応じ、量的変化があることを確認した。またメチル化とアセチル化の組み合わせ修飾も確認され、異なる量的変化があることについても確認した。

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

該当ありません

②この共同研究に基づくとの記載のある論文

該当ありません

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)

該当ありません

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)

R3/5/10 AMED-CREST 申請について

R3/12/22 共同研究継続について

R4/3/24 報告書作成、測定技術について