

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 5 年 3 月 30 日

群馬大学生体調節研究所長 殿

所属機関名 北里大学薬学部
職 名 教授
研究代表者 奥脇 暢

下記のとおり令和4年度の共同研究成果を報告します。

記

(課題番号: 22010)

1. 共同研究課題名	NPM1 による炎症のマスター転写因子 NF- κ B の結合制御の網羅的解析			
2. 共同研究目的	本共同研究では、申請者が見出した NPM1 依存的な NF- κ B 結合制御をゲノムワイドに解析するため、生体調節研究所において次世代シーケンサー (NGS) 解析を進める代謝エピジェネティクス分野の小松講師からの技術供与のもと、ATAC-seq 解析を実施する。NGS 解析による高い網羅性を生かし、生体の恒常性維持に重要な機能を果たす、炎症のマスターレギュレーターである転写因子 NF- κ B の制御における新たな知見獲得を目指す。			
3. 共同研究期間	令和 4 年 4 月 1 日 ~ 令和 5 年 3 月 31 日			
4. 共同研究組織				
氏 名	所属等	職名等	役割分担	
(研究代表者) 奥脇 暢	北里大学薬学部	職名:教授 学位:博士(工学) 取得年月日:1999.3.31	研究の遂行と統括	
(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	小松 哲郎

次の6, 7, 8の項目は、枠を自由に変更できます(横幅は変更不可)。6, 7, 8の項目全体では2頁に収めてください。

6. 共同研究計画

炎症は、免疫系や代謝系に重要な役割を果たす。一方で、様々な疾患原因として、慢性炎症が注目されている。従って、炎症の分子基盤の解明は、生体の恒常性維持機構と、その破綻による疾患発症機序を理解する上で重要な課題である。申請者は、炎症のマスターレギュレーターである転写因子 NF- κ B が、核小体タンパク質である NPM1 による制御を受け、標的 DNA 配列に結合することを見出した (Nucleic Acids Res 2017)。本研究では、NPM1 による NF- κ B の結合調節をゲノムワイドに解析するため、網羅的且つ高感度に転写因子の結合を解析できる ATAC-seq を実施する。具体的には、コントロールおよび NPM1 ノックダウン細胞より ATAC-seq ライブラリーを調製し、NGS データ取得後に比較解析を行う。NPM1 依存的な NF- κ B 結合サイトを網羅的に同定すると共に、NPM1 による結合制御を受ける未知の転写因子の同定に挑む。

7. 共同研究の成果

本共同研究課題において、生体調節研究所との共同研究が貢献した内容についても具体的に記載してください。

コントロール細胞および NPM1 のノックダウン細胞を準備し、二つの細胞株から ATAC-Seq のライブラリー調製を行った。トランスポザーゼ Tn5 や反応に必要なバッファー等の試薬は代謝エピジェネティクス分野の小松講師より分与され、酵素反応までは代表者の研究室で行った。コントロールおよび NPM1 ノックダウン細胞、それぞれ 3 サンプルずつを準備し、DNA 精製を行った。その後、断片化された DNA の質のチェック、ライブラリー調製、次世代シーケンサー解析を群馬大学生体調節研究所で実施し、データを取得した。得られた DNA 配列のゲノム配列へのマッピング、重複リードの除去、ピークコールを実施した。NPM1 のノックダウンによって、検出されるピークに変動があったゲノム領域を抽出し、その領域に出現する塩基配列の特徴の解析、遺伝子との紐づけを行った。これらのデータ解析についても生体調節機構の小松講師が主に担当し、未来先端研究機構の川端麗華先生のご助言をいただいた。本解析を通して、NPM1 ノックダウンによって、クロマチン構造が変動する遺伝子領域が大まかに明らかになってきた。これまでの解析から NPM1 は NF- κ B の DNA 結合を制御する機能を有することから、NF- κ B の標的遺伝子のクロマチン構造変動がみられることを想定していた。ATAC-Seq 解析のデータからは、現時点で NF- κ B の標的配列に大きな変動は見られていない。一方で、NPM1 のノックダウンによってクロマチン構造に変動がみられる領域の配列を解析したところ、いくつかの転写因子の標的配列に類似した配列が得られた。今後、これらの転写因子と NPM1 との細胞機能における相関を解析して行く予定である。

8. 共同研究成果に関連する学会発表・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できる限り記載してください。なお、論文の場合は、PDFファイルを以下の研究所庶務係のメールアドレスまで報告書と併せてお送りください。) 研究所庶務係 e-mail : kk-msomu4@jimu.gunma-u.ac.jp

- 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)
 - ・ Tn5 の反応条件、DNA 抽出に関するプロトコルの情報提供(4月)
 - ・ 北里大におけるパイロット実験の実施と、群馬大生体調節研究所での DNA の質のチェックの実施(6月)
 - ・ ATAC-Seq ライブラリー調製に関する進捗状況に関する情報交換(6—8月)
 - ・ NGS 解析データに関する情報交換(9—12月)
 - ・ NPM1 によって変動するゲノム領域に関する情報交換(1—3月)
 - ・ 今後の共同研究継続に関する情報交換(1—2月)