

五十嵐 和彦

東北大学大学院医学系研究科 教授

定量的エピゲノム解析法の開発と細胞分化機構の解明

## §1. 研究実施体制

(1)「東北大学」グループ

① 研究代表者:五十嵐和彦 (東北大学医学系研究科、教授)

② 研究項目

- ・定量的 ChIP-Seq(Q-ChIP-Seq) 法の開発
- ・エピゲノムマップ-転写因子結合マップ-発現プロファイルの統合解析によるドライバーエピゲノム同定
- ・骨髄腫のエピゲノム比較

## §2. 研究実施内容

(文中に番号がある場合は(3-1)に対応する)

### 定量的 ChIP-Seq(Q-ChIP-Seq) 法の開発

ChIP-Seq 技術は、免疫沈降した DNA のシーケンス反応を行い、ゲノム上にはり付いたタグ数をカウントすることでヒストン修飾量や転写因子結合量を判定する方法である。現行の方法では、全タグ数が同一であるという前提条件下ではじめて、サンプル間の比較が可能となるが、これは現実的には成立しない可能性がある。特に、細胞分化の際には、ヘテロクロマチン量やユークロマチン量が大幅に変化する可能性があり、このような場合、従来法を用いた比較は困難であると予想される。本プロジェクトで対象とする形質細胞は、ゲノムの多くがヘテロクロマチン化していること、そのヘテロクロマチン領域が核膜直下に密集して車軸状核を形成することが知られている。本年度は、まず、B リンパ球が形質細胞へ分化する際のヒストン修飾を定量的に比較することを行った。B 細胞受容体遺伝子に組み換え VDJ をノックインしたマウスを取り寄せ、効率よく形質細胞へ分化させる系を確立した。この系を用いて、いくつかのヒストン翻訳後修飾について形質細胞分化と

ともにどのように変動するのかを測定した。ウエスタンブロット法で修飾総量を定量してシーケンスタグ総数を補正する可能性を含め、次年度に検討したい。

### エピゲノムマップ・転写因子結合マップ・発現プロファイルの統合解析によるドライバーエピゲノム同定

前年度までの研究で、**Bach2** ノックアウト B 細胞を CD40 リガンドとインターロイキン 4 で活性化し、3 日目には培養細胞集団の 5 割以上が形質細胞へと分化する系を確立した。これを用いて、0 日、1 日、3 日と遺伝子発現プロファイルの変化を野生型（一部だけ形質細胞に分化し、多くは活性化状態に留まる）と **Bach2** ノックアウト B 細胞を用いて実施した。しかし、**Bach2** ノックアウト B 細胞を活性化すると効率に形質細胞へと分化するものの、その速度は細胞ごとにかなりばらついていることがわかり、発現プロファイルデータをそのままドライバーエピゲノム同定へ活用することには問題があると判断した。そこで、上記の B 細胞受容体遺伝子 VDJ ノックインしたマウスより調整した B 細胞を用いて、比較的均質な分化系を確立し、その発現プロファイリングを試みつつある。また、ドライバーエピゲノムに作用する酵素複合体の候補として methionine adenosyltransferase II (MATII) に着目し、その複合体を解析し、ヒストンメチル化酵素 SETDB1 と相互作用することを見だし、論文として報告した。

## §3. 成果発表等

### (3-1) 原著論文発表

#### ● 論文詳細情報

1. Kera, Y., Katoh, Y., Ohta, M., Matsumoto, M., Takano-Yamamoto, T. and Igarashi, K. “Methionine adenosyltransferase II-dependent histone H3K9 methylation at the COX-2 gene locus.” J. Biol. Chem. 2013, in press