

「エピゲノム研究に基づく診断・治療へ向けた新技術の創出」
平成 24 年度採択研究代表者

H26 年度
実績報告書

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 (研究機関別)

① 研究代表者: 五十嵐 和彦 (東北大学大学院医学系研究科、教授)

② 研究項目

- ・ 定量的 ChIP-Seq (Q-ChIP-Seq) 法の開発
- ・ エピゲノムマッパー転写因子結合マッパー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. 研究実施の概要

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。前年度までの研究から、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から単離した B リンパ球を素材とする高効率形質細胞分化系を用いて、時系列 RNA-sequence 解析を実施し、形質細胞分化に伴って 10 倍以上の大きな変動を示す遺伝子 1,000 ヶ程度を特定した。これら遺伝子のいくつかについて、そのヒストン修飾を通常の ChIP 法を用いて測定し、発現と関連した変動を示すことを見いだした。本年度は形質細胞分化に必須の転写因子について ChIP-Seq を実施し、この際、新たに開発した ChIP 内部標準分子を用いて転写因子結合量の定量化を試みた。前年度に同定した変動遺伝子を中心に転写因子結合量を検討したところ、予想通り、ChIP-Seq のシグナルを内部標準分子シグナルにより補正することで、より定量性が高まることを確認し、Q-ChIP-Seq 技術をほぼ確立することができた。

ドライバーエピゲノムの同定

形質細胞分化は、複数の転写因子が分化を進める遺伝子ネットワーク、そして逆に分化を抑える遺伝子ネットワークを作り、これらネットワークが相互作用することで制御されることを見いだしてきた。本年度は、これら転写因子の一つが遺伝子発現の活性化にも抑制にも作用することに着目し、この転写因子のゲノム結合部位を同定し、近傍遺伝子発現変化データと組み合わせることで、形質細胞分化に重要なエピゲノム領域(活性化、および抑制の両方を同時に)を特定することを試みた。結合部位の測定には上に述べた Q-ChIP-Seq 技術を用いた。その結果、この転写因子は確かに形質細胞分化とともに発現上昇する遺伝子に加え、多くの発現低下遺伝子近傍にも結合することを証明することができた。これら遺伝子領域では、発現パターンに応じたヒストン修飾変動を示すことを、通常 ChIP 実験により確認した。現在、ヒストン修飾についても Q-ChIP-Seq 解析をすすめており、得られるデータを統合することでドライバーエピゲノムを同定していく。

転写因子ネットワークが切り替わって形質細胞分化が誘導される仕組みを理解するために、転写因子の翻訳後修飾について質量分析計を用いた測定を行った。細胞内シグナル伝達系の下流で変動するリン酸化部位を特定し、変異導入実験により機能制御に関わることを確認した。このリン酸化修飾と形質細胞分化との関係の詳細を次年度さらに検討していく。