

## 二国間交流事業 共同研究報告書

平成 23年 3月 31日

独立行政法人日本学術振興会理事長 殿

共同研究代表者所属・部局 東北大学・大学院農学研究科

職・氏名 (ふりがな) 准教授・原田昌彦 (はらた まさひこ)

1. 事業名 相手国 (チェコ) との共同研究 振興会対応機関 (ASCR)
2. 研究課題名 クロマチン動態および転写制御におけるアクチン・ミオシン両ファミリー間の機能協調

3. 全採用期間

平成 21年 4月 1日 ~ 平成 23年 3月 31日 (2年 0ヶ月)

4. 経費総額

(1) 本事業により執行した研究経費総額 5,000,000円

初年度経費 2,500,000円、 2年度経費 2,500,000円、 3年度経費         円

(2) 本事業経費以外の国内における研究経費総額 3,000,000円

## 5. 研究組織

### (1) 日本側参加者（代表者は除く）

氏名 (ふりがな)	所属・職名	研究協力テーマ
(おま ゆかこ) 尾間由佳子	東北大学・研究支援者	出芽酵母 IN080 の機能解析
(まつだりょう) 松田 涼	東北大学・博士課程後期課程	H2A.Z アイソフォームの解析
(きたむらひろし) 北村大志	東北大学・博士課程後期課程	核内ミオシンに結合する Arp6 の解析
(かも まりこ) 加茂真理子	東北大学・博士課程前期課程	核内アクチン関連タンパク質 Arp5 の解析
(あきむらかずみ) 秋村和美	東北大学・博士課程前期課程	出芽酵母 Arp6 の機能解析
(たかはしゆういちろう) 高橋裕一朗	東北大学・博士課程前期課程	核内アクチン関連タンパク質 Arp8 の解析
(なかやまけやき) 中山景樹	東北大学・博士課程前期課程	出芽酵母核と Arp6 との相互作用解析
(たしろ さとし) 田代 聡	広島大学・教授	FRAP によるタンパク質のダイナミクス解析
(すん けいえい) 孫 継英	広島大学・助教	ゲノム安定性維持における Arp の機能解析

### (2) 相手国側研究代表者

所属・職名・氏名

Institute of Molecular Genetics, Professor, Pavel Hozak

### (3) 相手国参加者（代表者は除く）

氏名	所属・職名（国名）	研究協力テーマ
Michal Kahle	Institute of Molecular Genetics・ Postdoctoral fellow (チェコ)	核内ミオシンノックアウトマウスの作成
Enrique Castano	Institute of Molecular Genetics・ Postdoctoral fellow (チェコ)	核内ミオシンの転写への関与
Vlada Philimonenko	Institute of Molecular Genetics・ Postdoctoral fellow (チェコ)	免疫電顕による核内アクチン・ミオシンファミリーの解析
Rastislav Dzijak	Institute of Molecular Genetics・PhD student (チェコ)	核内ミオシン変異体の解析
Sukriye Yildirim	Institute of Molecular Genetics・PhD student (チェコ)	リン脂質による核内ミオシンの機能制御
Alzbeta Kalendova	Institute of Molecular Genetics・PhD student (チェコ)	アクチンファミリーノックアウト細胞の解析
Jana Rohozkova	Institute of Molecular Genetics・PhD student (チェコ)	核内のアクチン結合タンパク質の機能解析
Tomas Venit	Institute of Molecular Genetics・PhD student (チェコ)	核内ミオシンノックアウトマウスの解析

6. 研究実績概要（全期間を通じた研究の目的・研究計画の実施状況・成果等の概要を簡潔に記載してください。）

真核生物の遺伝情報が刻まれたゲノムは、細胞核内でヒストンなどのタンパク質と結合したクロマチンを形成している。さらにこのクロマチンは、その機能に対応して核内を移動し、特定の場所に配置される。このクロマチンの構造、および核内での動態と配置が、ゲノム機能のエピジェネティック制御の分子基盤として、遺伝子発現、発生分化、老化、などを制御し、その機能の破綻は遺伝病、ガンなどの疾患を引き起こす。しかし、このような核内のクロマチン配置や動態の基盤となる分子機構はこれまでに解明されていない。本研究の日本側代表者である原田昌彦と、チェコ側代表者である Pavel Hozak は、それぞれ細胞核内に局在するアクチンファミリーとミオシンファミリー分子を見出し、これらがエピジェネティック制御に重要な役割を果たすことを示した。そこで、本研究では、共同研究によってアクチンおよびミオシンファミリーの協調による、クロマチンの配置や動態および遺伝子発現制御の分子機構を解明することを目的とした。

本二国間交流事業により、以下の研究をおこない、重要な成果を得た。

#### Arp6 破壊株における遺伝子発現解析と、NM1 局在・機能解析

テトラサイクリンにより Arp6 機能を条件的に破壊できる細胞を用いて、NM1 の核内局在を観察するための実験を、平成 21 年度に原田、北村、松田が Pavel Hozak の研究室を訪問して行なった。観察の結果に基づき、抗体の特異性を改善するための条件検討を行ない、平成 22 年度に原田、北村が Pavel Hozak の研究室において FRAP 解析を行い、これらのタンパク質間の機能的相互作用を検出した。

#### NM1 ノックアウト細胞におけるクロマチン動態、遺伝子発現、および Arp6 の局在解析

NM1 ノックアウトマウスの初代培養細胞が Pavel Hozak の研究室において樹立されているが、ヒト細胞での NM1 および Arp6 の機能についてさらに解析する目的で、ヒト由来 NALM-6 細胞を用いての NM1 ノックアウト細胞の作成に着手した。この実験については、国立遺伝学研究所からの協力を得ることとし、この研究打ち合わせを、原田、北村、松田、Pavel Hozak、Alzbeta Kalendova, Tomas Venit が、国立遺伝学研究所の柴原准教授を訪問して行なった。また、この細胞の FRAP 解析を、原田、松田、北村が Pavel Hozak の研究室を訪問し、その設備を利用して行なった。

#### Arp6-NM1 の相互作用の解析

大腸菌での発現系を用いて、Arp6 および NM1 を発現精製した。また、機能ドメインを解析する目的で、様々な変異体を作成した。この変異体の作成には、Pavel Hozak 研究室のコンストラクトを利用し、これらを用いることで、Arp6 と NM1 の機能的相互作用を明らかにした。

#### Arp5 および Arp8 破壊細胞の作成

ヒト NALM-6 細胞を用いて、Arp5 および Arp8 ノックアウト細胞を作成した。この細胞を用いて、NM1 の機能や核内ダイナミクスの解析を行った。

#### 生細胞中の核内アクチンファミリーおよびミオシンファミリーの一分子解析

生きた細胞の核における、アクチンファミリーおよびミオシンファミリーの動態を観察する目的で、東京工業大学の徳永教授を訪問して、研究打ち合わせを行った。訪問メンバーは、原田、北村、高橋、Pavel Hozak, Vlada Philimonenko, Sukriye Yildirim, Jana Rohozkova である。この打ち合わせに基づき、原田、北村が Pavel Hozak の研究室で、解析のための準備を行った。既に、予備的な実験で興味深い結果が得られており、今後の共同研究により、この分野におけるブレークスルーが期待できる。

以上の共同研究の成果については、すでに原著論文として公表した他、投稿論文をさらに作成中である。また、国際学会の招待講演としても、本共同研究の成果を報告した。