

平成 26 年度 金沢大学がん進展制御研究所 共同研究報告書

研究区分		一般共同研究
研究課題		がん細胞の上皮・間葉転換におけるヒストンの翻訳後修飾の解析
研究代表者	所属・職名・氏名	東京工業大学・教授・木村宏
受入担当教員	職名・氏名	教授・鈴木健之
【研究目的】	本共同研究では、がんに関与するヒストンのメチル化・脱メチル化酵素群の細胞生物学的機能を解析し、エピゲノム異常によるがんの発症と悪性化の分子機構を解明することを目的とする。そのために、申請者らが開発したヒストンの翻訳後修飾特異的、修飾部位特異的なモノクローナル抗体を用いて、ChIP sequence 法などによるエピゲノム解析と、個々の細胞レベルでのグローバルなヒストン翻訳後修飾の動態解析を行う計画である。特に、がんの悪性進展過程に重要な上皮・間葉転換（EMT）における新しいエピジェネティックな制御機構を明らかにすることを目指している。	
【研究内容・成果】	ヒストン H3 のメチル化修飾部位のうち、遺伝子の発現制御に重要な 4 番目の Lys 残基 (K4)、および K9、K27、K36、K79 について、それぞれのメチル化修飾の状態を特異的に認識するマウスモノクローナル抗体の作製を遂行した。また、アセチル化、リン酸化など他の翻訳後修飾とメチル化修飾が併存する状態を認識する抗体についても開発を進行した。作製した抗体を用いて、正常細胞とがん細胞、あるいは悪性度の異なるがん細胞を比較しながら、個々の細胞レベルでのグローバルなヒストン修飾のダイナミクスを解析した。特に、がんの悪性進展過程に重要な上皮・間葉転換（EMT）のプロセスにおいて、ヒストンのメチル化修飾の変化を調べ、その分子メカニズムを解析することを試みた。 がん細胞の悪性進展過程のモデルとして、A549 肺がん細胞株が TGF-β 処理によって、上皮・間葉転換（EMT）を誘導される実験系に着目した。これらの特異的修飾認識抗体を用いて、EMT 誘導前後の個々の細胞レベルでのヒストン H3 の翻訳後修飾の変化を調べた。その結果、ヒストン H3K27 のトリメチル化 (me3) レベルの著しい上昇を検出することができた。次に、ヒストン H3K27 メチル化修飾を担う酵素群である PRC2 および PRC1 複合体の細胞内動態（複合体構成、細胞内局在、翻訳後修飾など）の解析をスタートした。これまでに、PRC2 複合体の構成要素である EED と、複合体のアクセサリ因子である JARID2 が、EMT 誘導プロセスにおける PRC2 の標的遺伝子へのリクルートとヒストンメチル化の制御に、重要な役割を果たしていることを見いだした。今後も、こうした酵素複合体の解析を通じて、EMT プロセスにおける動的クロマチン構造制御の分子基盤を解明していきたいと考える。	
【成果等】	【主な論文発表】 Hieda M, Matsuura N, and Kimura H. Histone modifications associated with cancer cell migration and invasion. <i>Methods Mol Biol</i> 1238, 301-317 (2015). Hayashi-Takanaka Y, Stasevich TJ, Kurumizaka H, Nozaki N, and Kimura H. Evaluation of chemical fluorescent dyes as a protein conjugation partner for live cell imaging. <i>PLoS One</i> 9, e106271 (2014) Stasevich TJ, Sato Y, Nozaki N, and Kimura H. Quantifying histone and RNA polymerase II post-translational modification dynamics in mother and daughter cells. <i>Methods</i> 70, 77-88 (2014)	
	【学会発表】 なし	
	【その他特筆事項】 なし	