

平成19年度 工学部予算重点配分研究テーマ研究報告書

(1) 研究テーマ

「エピジェネティックな現象解明に向けた蛍光物質を利用した新技術の開発」

(2) 研究代表者

生物応用化学専攻、准教授、沖 昌也

(3) 研究成果の概要

【研究背景と目的】

DNA 配列が同じにも関わらず、状況に応じ遺伝子が発現したりしなかったりする。また、この遺伝子発現情報がそのまま子孫にも受け継がれていく。このような現象は「エピジェネティクス」と呼ばれ様々な疾患との関与が報告され近年急速に注目を集めている。エピジェネティックな現象の1つとして「斑入り位置効果 (Position effect variegation : PEV)」が知られている。「斑入り位置効果」は、遺伝子発現の ON と OFF が混在し、子孫に継代するうちに発現情報が切り替わることにより起こる現象であるが分子レベルでの調節機構はほとんど明らかになっていない。この現象を分子レベルで明らかにすることはエピジェネティックな現象解明につながることで期待される。本申請では、現段階では分子レベルでの解析がほとんど行われていない遺伝情報が子孫に受け継がれていく、継代のメカニズムを解析する新たなシステムの開発を目指す。

【研究成果】

(a) H2B-GFP 融合タンパク質発現プラスミドベクターの作成

本研究で重要な点は1回の細胞分裂（2時間）の間に発現し、蛍光を発し定量出来ることである。そのため、発現後2時間以内に、蛍光を発することが既に報告されているヒストンH2B-GFPをレポーター遺伝子として用い、PCR 法、遺伝子組換え技術を用い、H2B-GFP 融合蛋白質を生産出来るプラスミドベクターを作成した。作成したプラスミドを図1に示す。

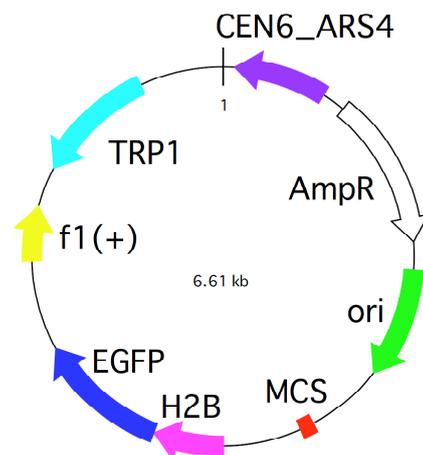


図1：作成したヒストンと GFP（蛍光物質）を融合したプラスミド

(b) 作成した H2B-GFP 融合遺伝子挿入部位の決定

出芽酵母内相同組換え技術を用い、出芽酵母内において遺伝子発現の ON と OFF が混在する境界領域に H2B-GFP を挿入するため、遺伝子発現の ON と OFF が混在する境界領域を決定した (図 2)。遺伝子発現の ON と OFF が混在する境界領域の場合、レポーター遺伝子が発現していないときのみ生育する培地上でも、レポーター遺伝子が発現したときのみ生育する培地上どちらでも生育可能であった。

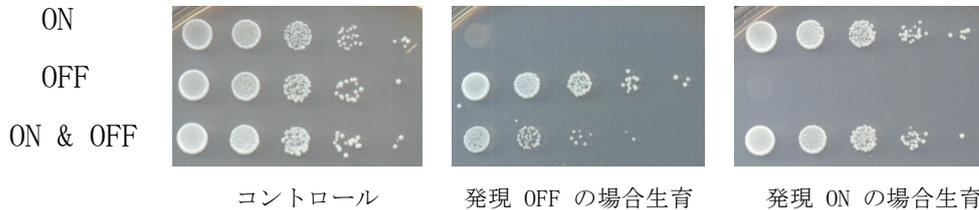


図 2 : 遺伝子発現の ON と OFF が混在する境界領域の決定

(c) 細胞内における H2B-GFP の発現測定

ヒストン H2B に GFP が融合しているため発現している細胞では核が光る。(a) で作成した H2B-GFP が酵母細胞内で発現し、蛍光を発しているか蛍光顕微鏡を用い観察した。その結果、ヒストン H2B と GFP が融合したタンパク質が発現し、核内に局在していることが観察された。

(4) 配分額及び経費の支出額内訳

【配分額】 円

【支出額内訳】 円 円

円

合計 : 円

(5) その他特記事項

【研究成果報告 (学会発表)】

1. 沖昌也、畑中彬良、具雲峰、伊東護一、内田博之、中山潤一

第 1 回日本エピジェネティクス研究会年会 (大阪) 2007 年 6 月

2. 沖昌也、畑中彬良、具雲峰、伊東護一、眞野恭伸、内田博之

酵母遺伝学フォーラム (大阪) 2007 年 9 月

3. 沖昌也、畑中彬良、具雲峰、光森理紗、眞野恭伸、堀田明裕、内田博之

YEAST WORKSHOP (広島) 2007 年 11 月

4. 畑中彬良、内田博之、沖昌也

染色体ワークショップ (静岡) 2008 年 1 月