

提出日：平成 28 年 月 日

平成 27 年度 大阪大学蛋白質研究所 拠点事業

(2) 研究成果の概要

課題名	特定 HDAC を介した神経突起伸長に関するエピジェネティックな分子機構の解析	
研究代表者	氏名	下家 浩二
	所属機関名・部局名	関西大学・化学生命工学部
	職名	教授
事業名 (該当の事業名の右欄に○)	○	共同研究員
		国際共同研究課題
		超高磁場NMR 共同利用研究課題
		客員フェロー
蛋白研受入担当教員名	田嶋 正二	
<p>神経損傷後の初期段階に見られる神経突起伸長のメカニズムの詳細を解析することは、その治療法の確立に非常に有用である。本研究ではモデルニューロン細胞である PC12 細胞を使用した突起伸長作用の初期段階のメカニズムの詳細について解析を行っている。これまでに HDAC 阻害剤 (HDACi) や細胞内 cAMP の濃度を上昇させる forskolin (FSK) が添加 24 時間以内に突起伸長作用を有することや、この突起伸長時に Immediate Early Genes の一つである <i>nur77</i> 遺伝子または <i>grp78</i> 遺伝子が関与していることを明らかにしている。今回、新たに <i>nur77</i> 遺伝子の下流で神経突起伸長作用を惹起する遺伝子群の関与の可能性について解析を行った。その際、HDACi や FSK 存在下、siRNA 添加による knock-down 実験を行い、神経突起伸長作用の関与について解析を行った。その結果、FSK 添加後では <i>nur77</i> 遺伝子の発現が上昇することで神経突起伸長作用に関与することが示された。この時、<i>nur77</i> 遺伝子の発現上昇は、ヒストン H3 のリシン 14 番目のアセチル化 (K14H3) を伴っていることが明らかとなった。この結果は、胎児ラットから脳を取り出した後の大脳皮質神経細胞を用いた実験でも確認された。さらに、<i>nur77</i> 遺伝子のプロモーター領域とヒストン H3 のリシン 14 番目のアセチル基とが結合することを ChIP アッセイにより明らかにすることが出来た。また、<i>nur77</i> 遺伝子のプロモーター領域において、どの領域が転写活性に重要かをプロモーターアッセイにより解析した。その結果、転写開始上流-231 から-37 の領域を欠損させた場合、プロモーター活性が有意に減少することが分かった。よって、この部分の塩基配列が神経突起伸長には重要であることが強く示唆された。さらに、遺伝子の発現制御における DNA 側の修飾 (メチル化) の関与をバイサルフェートシーケンシング法や DNA のメチル化阻害剤 decitabin (DCN) の添加実験で確認を試みた。その結果、<i>nur77</i> 遺伝子上流に CpG アイランドを見出し、FSK 添加後の神経突起伸長時における DNA のメチル化の検出を行ったが、DNA のメチル化は見られなかった。しかし、DCN 添加によって神経突起が伸長したことから、ゲノム内の別の遺伝子 (群) 上流のの脱メチル化が重要であることが示唆された。</p>		

※本様式は、“拠点事業成果報告”として、拠点ホームページにて公開させていただく予定です。

※必ず A4 用紙 1 枚におさめて下さい。 ※提出期限：平成 28 年 5 月 20 日 (金) ※提出の際は PDF 変換して下さい。

※提出先：大阪大学蛋白質研究所拠点プロジェクト班 E-mail: tanpakuken-kyoten@office.osaka-u.ac.jp