

研究成果報告書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) AB		クロマチン構造解析による SINE 由来エンハンサーの機能進化に関する研究			
研究テーマ (欧文) AZ		Chromatin conformation analysis concerning SINE-derived enhancers			
研究氏 代表 者	カタカナ CC	姓) ニシハラ	名) ヒデノリ	研究期間 B	2009 ~ 2010 年
	漢字 CB	西原	秀典	報告年度 YR	2011 年
	ローマ字 CZ	Nishihara	Hidenori	研究機関名	東京工業大学
研究代表者 CD 所属機関・職名		東京工業大学・助教			
<p>概要 EA (600 字~800 字程度にまとめてください。)</p> <p>申請者は以前、哺乳類特異的に保存されたゲノム領域の一部が散在性反復配列の一種である SINE に由来することを発見し、そのうち複数の遺伝子座がエンハンサー機能を持つことを示した。本研究の目的は、3C(Chromatin Conformation Capture)法、および4C(Circular 3C)法を応用し、マウス個体を用いたエンハンサー標的遺伝子の同定法を確立・応用することである。これまで、マウス終脳でエンハンサー機能を持つ AS021 遺伝子座、間脳で機能する AS071 遺伝子座、吻部で機能する AS3_9 遺伝子座といったに3つの SINE 由来エンハンサーが単離されており、それぞれに関して、エンハンサーの標的となる候補遺伝子との間でどのようなクロスリンク状態を定量的に解明する。まずマウス胚の各部位より分離した組織を固定し、DNA-タンパク質の結合状態を固定した状態(クロスリンク)で細胞核を収集する。次にクロスリンクさせた状態で制限酵素処理をおこなった後にライゲーションさせることで、タンパク質を介して相互作用した DNA 同士を連結させたライブラリを構築する。最後にエンハンサー近傍配列および候補遺伝子のプロモーター配列の近傍にそれぞれプライマーを設計し、定量 PCR をおこなうことでこれらの DNA 間の相互作用を検出する。本研究ではステージとしては E10.5~E13.5 の各部位(終脳、間脳、吻部)を試料とし、EcoRI、HindIII、MboI など様々な制限酵素を用いて3C アッセイを試みた。これまでにバックグラウンドと比較して有意に高い結合状態を検出するに至っていないものの、生体からのクロマチン構造解析の基盤を整えることが出来た。生体組織からの3C アッセイにおいては、固定やLigationなど多くのステップにおいてサンプルごとに最適な反応条件が異なることから、今後のさらなる条件検討が必要であると考えられる。この研究を発端として、将来的に生体からのクロマチン構造解析が可能になれば、エンハンサーのみならずゲノム構造変化を介した発現調節メカニズムの解明に向けて大きく前進すると期待される。</p>					
キーワード FA	レトロポゾン	エンハンサー			

(以下は記入しないでください。)

助成財団コード TA					研究課題番号 AA								
研究機関番号 AC					シート番号								

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）									
雑誌	論文標題 ^{GB}	Emergence of mammals by emergency: exaptation.							
	著者名 ^{GA}	Okada N, Sasaki T, Shimogori T and Nishihara H.	雑誌名 ^{GC}	Genes to Cells					
	ページ ^{GF}	801~812	発行年 ^{GE}	2	0	1	0	巻号 ^{GD}	15
雑誌	論文標題 ^{GB}	Characterization and evolutionary landscape of AmnSINE1 in Amniota genomes.							
	著者名 ^{GA}	Hirakawa M, Nishihara H, Kanehisa M, Okada N.	雑誌名 ^{GC}	Gene					
	ページ ^{GF}	100~110	発行年 ^{GE}	2	0	0	9	巻号 ^{GD}	441
雑誌	論文標題 ^{GB}	The evolution of two partner LINE/SINE families and a full-length chromodomain-containing Ty3/Gypsy LTR element in the first reptilian genome of Anolis carolinensis.							
	著者名 ^{GA}	Piskurek O, Nishihara H, Okada N.	雑誌名 ^{GC}	Gene					
	ページ ^{GF}	111~118	発行年 ^{GE}	2	0	0	9	巻号 ^{GD}	441
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	

欧文概要 EZ

In 2006, we reported that over 100 loci of a novel retroposon family, AmnSINE1, are conserved among mammalian genomes, and are constituted of a part of CNEs, suggesting that they might have gained functions (exapted or co-opted) to regulate some gene expressions responsible for development of mammalian-specific morphology. In fact, we found that two of them act as enhancers during mammalian brain development. The AS071 locus is probably an enhancer for *fgf8* to express in diencephalon, while the AS021 locus is considered as an enhancer for *satb2* to express in neocortex. The Goal of this project is to identify genes to which SINE-derived enhancers target for transcription, using 3C (Chromatin Conformation Capture) assay. Application of this method to mouse tissues (not cell culture) further consideration on several steps to be overcome such as fixation of tissues and ligation condition. Future work for chromatin conformation analysis will allow us to resolve transcriptional regulatory mechanisms involving SINE-derived enhancers.