

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		核の二型性を用いた核構造レベルでの遺伝子発現制御機構の解析			
研究テーマ (欧文) AZ		Investigation of nuclear dimorphism to understand the roles of nuclear architectures in gene regulation			
研究氏 代 表 名 者	カナ CC	モチヅキ	カズフミ	研究期間 B	2015 ~ 2017 年
	漢字 CB	望月	一史	報告年度 YR	2017 年
	ローマ字 CZ	Mochizuki	Kazufumi	研究機関名	フランス国立科学研究センター ヒト遺伝学研究所
研究代表者 CD 所属機関・職名	フランス国立科学研究センター(CNRS)研究ディレクター、ヒト遺伝学研究所(IGH)グループリーダー				
概要 EA (600字~800字程度にまとめてください。)					
<p>単細胞真核生物のテトラヒメナには、遺伝子発現活性を持つ大核と、その活性を欠く小核が、同一の細胞内に共存している。本研究は、これらの核の違いを解析することで、核構造と遺伝子発現の関係について、新たな知見を得ることを最終的な目的として行われた。</p> <p>まず、フローサイトメーターを用いた核の単離方法の改善を行い、大核と小核の効率的な分離に成功した。さらに核膜、染色体、核質の分離を試みたが、方法の確立には至らなかった。そこで、分離した核全体を用いて、質量分析によるタンパク質の同定を行った。</p> <p>大核と小核を合わせて、約 600 個のタンパク質を同定した。260 個が大核に、16 個が小核に特異的であった。期待通り、大核特異的タンパク質には、多くの転写やスプライシングに関与するタンパク質が含まれていた。大核特異的タンパク質から、染色体以外に局在すると予想されるものを 20 個、小核特異的に検出されたタンパク質から、未報告の 10 個を選んで、エピトープタグを用いて、それらの細胞内局在を観察した。最終的に、11 個の大核特異的タンパク質と 3 個の小核特異的タンパク質が確認された。</p> <p>大核特異的タンパク質の内の一は von willebrand factor type A に類似性があり、Vwa1p と名付けた。VWA1 遺伝子破壊株は、通常培養条件下 (30°C) では、野生型とほぼ同等に増殖し、目立った表現型を示さなかったが、高温条件下 (40°C) では増殖速度の低下と、一部の細胞において核の形態の異常を示した。Vwa1p の機能については解析中である。また、Vwa1p の興味深い特徴として、多くの大核局在タンパク質とは異なり、接合過程において、母性 Vwa1p は古い大核に留まり、新しい大核には移動しないことを見出した。現在、Vwa1p のこの性質を用いて、古い大核と新しい大核を簡便に分離する方法の開発に取り組んでいる。</p>					
キーワード FA	核構造	核局在	テトラヒメナ	遺伝子発現	

(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}	Phosphorylation of an HP1-like protein is a prerequisite for heterochromatin body formation in <i>Tetrahymena</i> DNA elimination.							
	著者名 ^{GA}	Kataoka, K et al.	雑誌名 ^{GC}	Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America					
	ページ ^{GF}	9027 ~ 9032	発行年 ^{GE}	2	0	1	6	巻号 ^{GD}	113
雑誌	論文標題 ^{GB}	Whats, hows and whys of programmed DNA elimination in <i>Tetrahymena</i>							
	著者名 ^{GA}	NOTO, T; MOCHIZUKI K	雑誌名 ^{GC}	Open Biology					
	ページ ^{GF}	170172	発行年 ^{GE}	2	0	1	7	巻号 ^{GD}	9
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	~	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
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

The ciliated protozoan *Tetrahymena thermophila* has a transcriptionally-active macronucleus (MAC) and a transcriptionally-inactive micronucleus (MIC) in a single cell. The goal of this study is to understand the relationship between the nuclear architecture and gene regulation through investigating the differences of the two nuclei.

First, we established an improved protocol for separating the MAC and MIC using a flow cytometer, which allowed us to efficiently isolate MACs and MICs. We failed to separate the nuclear membrane, chromatin and nucleoplasm. So, we identified proteins from the whole MACs and MICs. We identified approximately 600 nuclear proteins, of which 260 were detected only from the MACs and 16 were only from the MICs. As expected from the transcriptional activity of the MAC, many of the MAC-specific proteins are related to transcription or splicing. We chose 20 MAC-specific proteins, which are not obviously associated with chromatin, and 10 uncharacterized MIC-specific proteins, and analyzed their cytological localization using epitope-tagging. Eventually, we confirmed that at least 11 of the MAC-specific proteins and 3 of the MIC-specific proteins specifically localize to the MAC and MIC, respectively.

One of the MAC-specific proteins is similar to von Willebrand factor type A and referred to as VWA1. We produced VWA1 knockout (KO) strains and found that they grew almost normally and did not show any obvious phenotype at our standard culture condition (30°C). However, in a culture condition with higher temperature (40°C), their growth was markedly depressed and a fraction of cells showed abnormal nuclear morphology. Detailed molecular function of VWA1 is under investigation. Interestingly, we found that the maternally-expressed VWA1 did not translocate from the parental MAC to the new MAC during conjugation. Using this feature of VWA1, which is not typical for most other MAC-localizing proteins, we are trying to establish a method to quickly separate the parental MAC to the new MAC