

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |                                                                |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------|
| ID No.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | 227                                                            |
| 研究課題名                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 哺乳動物の冬眠における概年性の遺伝子発現制御機構の解明                                    |
| 研究代表者                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 高松 信彦 （北里大学・教授）                                                |
| 研究組織<br>受入教員<br>研究分担者                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 小林 郷介 （東京大学医科学研究所・助教）<br>塚本 大輔 （北里大学・助教）<br>櫻井 由紀奈 （北里大学・大学院生） |
| 研究報告書                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |                                                                |
| <p>哺乳動物の冬眠も遺伝子レベルで制御されていると考えられているが、冬眠に伴う遺伝子の発現制御機構はまだ明らかになっていない。私たちは、冬眠哺乳動物シマリスの肝臓において非冬眠期特異的に<i>HSP70</i> mRNAが増加していることを見出し、その転写制御機構の解析から、転写活性化因子HSF1が概年性の転写因子として機能していることを見出した。</p> <p>マウス肝臓においてHSF1が概日性の転写因子として機能しているので、本年度は、非冬眠期のシマリス肝臓においてもHSF1が概日性の転写因子として機能しているかを調べた。ノーザン解析の結果、<i>HSP70</i> mRNAがZT4に増加し、ZT16に減少するという概日リズムを示したことから、HSF1が概日性の転写因子として機能していると考えられた。時計遺伝子<i>Per2</i>も、概日リズムが<i>HSP70</i>と同調し、冬眠期にmRNAが著しく減少することから、HSF1の標的遺伝子である可能性が考えられた。シマリス<i>Per2</i>遺伝子クローンを単離し、HSF1結合配列(HSE)を探索したところ、5'上流の-6.4 kbと第1イントロンの+1.9 kbにあり、HepG2細胞では、第1イントロンのHSEを介したHSF1による転写活性化が観察された。さらに、クロマチン免疫沈降法による解析の結果、非冬眠期の肝臓において<i>Per2</i>遺伝子の第1イントロン内のHSEにHSF1が結合していた。</p> <p>また、非冬眠期及び冬眠期のシマリスの肝臓から抗Ago1及び2抗体を用いた免疫沈降によりRISCを精製、RISC中のRNAを抽出し、低分子RNAの網羅的なシーケンスを行った。その結果、非冬眠期に比べ、冬眠期にはRISC中のnoncoding RNAが減少し、肝臓に豊富に存在するmiR-122を含め、種々のmicroRNAの含量が増加していた。</p> |                                                                |