

様式 C - 7 - 1

平成29年度科学研究費助成事業（科学研究費補助金）実績報告書（研究実績報告書）

所属研究機関名称		奈良先端科学技術大学院大学	機関番号	14603
研究代表者	部局	バイオサイエンス研究科		
	職	助教		
	氏名	両角 佑一		

1. 研究種目名 研究活動スタート支援 2. 課題番号 17H06870

3. 研究課題名 ATAD2によるクロマチン動態制御機構の解析

4. 研究期間 平成29年度～平成30年度 5. 領域番号・区分 -

## 6. 研究実績の概要

本研究では、プロモドメインタンパク質ATAD2がES細胞のクロマチン動態制御においてどのような役割を果たすのかを明らかにすることを目的とする。ATAD2は、肺、乳がんをはじめとした様々ながん細胞で異常発現がみられ、その発現量に依存してがん悪性度も増すことが多数報告されている。このことから、ATAD2はがん悪性化に関わると考えられている。また、ATAD2はがん細胞以外にES細胞でも発現しており、ES細胞においてクロマチンの動態制御に関わることが我々の先行研究から明らかになった。しかし、ATAD2の詳細な機能は依然として不明であり、その機能解明はATAD2を介したがん悪性化メカニズムを理解する上で非常に重要である。2017年度は、まずATAD2のES細胞内における機能を解析するために、CRISPR-Cas9システムを用いてATAD2遺伝子ノックアウトES細胞株の樹立を試みた。異なる3種類のガイドRNAを用いた結果、いずれも効率よくATAD2をターゲットすることができ、実際にATAD2遺伝子欠損クローン細胞株を単離することに成功した。また、先行研究にて網羅的に同定したATAD2相互作用因子とATAD2の結合を、免疫沈降法を用いて個別に確認した結果、確認を行った因子全てにおいてATAD2と実際に相互作用することが確認された。また、試験管内アッセイ系の構築にあたり、必要となるATAD2をリコンビナントタンパク質として精製するための条件検討を行い、Cos7細胞においてATAD2を過剰発現させることでATAD2を効率よく精製できることが明らかになった。

## 7. キーワード

プロモドメイン ヒストン修飾

## 8. 現在までの進捗状況

区分 (2) おおむね順調に進展している。

理由  
2017年度は当初の目標通りATAD2遺伝子ノックアウトES細胞株を樹立することができ、現在その表現型を野生型およびshRNAによりATAD2をノックダウンしたES細胞株と比較解析しているところである。また、網羅的探索によって得られたATAD2相互作用因子のうち、予定通りいくつかの因子が実際にATAD2と相互作用することを確認することが出来た。また、試験管内アッセイ系の構築に必要なタンパク質の準備なども順調に進んでいる。以上のことから、おおむね順調に進展していると判断した。

2 版

## 9. 今後の研究の推進方策

今後は、引き続きATAD2ノックアウト細胞株の表現型を解析することでその細胞株の評価するとともに、ATAD2ノックアウト細胞株や必要に応じてATAD2ノックダウン細胞株を使用することでATAD2の機能を明らかにする。具体的には、それらATAD2欠損細胞株においてATAD2相互作用因子の機能を解析することで、ATAD2が相互作用因子の機能におよぼす影響を検討する。さらには、ES細胞におけるATAD2の機能が実際にがん細胞においても重要であるのかを確認するために、まずATAD2の過剰発現している肺がん細胞（H1299）乳がん細胞（MCF7）を用いてATAD2遺伝子発現を抑制した細胞株を作製し、その表現型を解析する。そして、ES細胞でみられたATAD2とその相互作用因子が、がん細胞においても相互作用することや、ATAD2遺伝子欠損がん細胞株における相互作用因子の機能を調べることで、ES細胞におけるATAD2の役割が、実際にがん細胞においても重要なのかを評価する。

## 10. 研究発表（平成29年度の研究成果）

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 0件 / うち国際共著論文 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 両角 佑一, 胡桃坂 仁志, Saadi Khochbin	4. 巻 -
2. 論文標題 精子の形成の際のヒストンH2A.L.2を介したクロマチンリモデリングの機構	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 ライフサイエンス新着論文レビュー	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.7875/first.author.2017.035	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Barral S, Morozumi Y, Hoghoughi N, Rousseaux S, Khochbin S	4. 巻 33
2. 論文標題 The mystery of histone disappearance during spermatogenesis	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 mdecine/sciences (Paris)	6. 最初と最後の頁 588-590
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 両角 佑一, Faycal Boussouar, Minjia Tan, Apirate Chaikquad, Sandrine Curtet, Anne-Laure Vitte, Clotilde Rabatel, Alexandra Debernardi, Sophie Rousseaux, Matthieu Gerard, Stefan Knapp, Yingming Zhao, Saadi Khochbin.
2. 発表標題 The role of ATAD2 in mouse embryonic stem cells
3. 学会等名 ConBio2017
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

1 1 . 研究成果による産業財産権の出願・取得状況

計0件（うち出願0件 / うち取得0件）

1 2 . 科研費を使用して開催した国際研究集会

計0件

1 3 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

-

1 4 . 備考

-