

平成21年度科学研究費補助金実績報告書（研究実績報告書）

1. 機関番号 1 4 6 0 3 2. 研究機関名 奈良先端科学技術大学院大学
3. 研究種目名 挑戦的萌芽研究 4. 研究期間 平成21年度～平成22年度
5. 課題番号 2 1 6 5 7 0 5 0
6. 研究課題名 特定一塩基、一細胞レベルでのDNAメチル化可視化技術の開発とその細胞生物学的応用

7. 研究代表者

| 研究者番号 | 研究代表者名 | 所属部局名 | 職名 |
|-----------------|-----------------------|-------------|----|
| 3 0 5 3 1 1 1 5 | フガナ タキザワ タクミ 滝沢 琢己 | バイオサイエンス研究科 | 助教 |

8. 研究分担者(所属研究機関名については、研究代表者の所属研究機関と異なる場合のみ記入すること。)

| 研究者番号 | 研究分担者名 | 所属研究機関名・部局名 | 職名 |
|-------|--------|-------------|----|
| | フガナ | | |
| | フガナ | | |
| | フガナ | | |
| | フガナ | | |
| | フガナ | | |

9. 研究実績の概要

下欄には、当該年度に実施した研究の成果について、その具体的内容、意義、重要性等を、交付申請書に記載した「研究の目的」、「研究実施計画」に照らし、600字～800字で、できるだけ分かりやすく記述すること。また、国立情報学研究所でデータベース化するため、図、グラフ等は記載しないこと。

申請者らがこれまでにDNAメチル化が分化に伴い減少することを明らかにしたアストロサイト特異的遺伝子glial fibrillary acidic protein (GFAP)のプロモーター上のSTAT3結合配列を標的とし、メチル化頻度が高いマウス胎生11.5日由来神経上皮細胞を用いて検討した。既に、定量的PCRにてメチル化に感受性があることを確認しているICONプローブ技術を用いて、標的配列に相補的なプローブを作成した。プローブは、5'側をビオチン分子で標識した。定法に則って、プローブをハイブリダイゼーションさせた後、オスミウム存在下で反応させプローブとメチル化標的配列との間にオスミウム塩による架橋を形成し、ほぼ不可逆的なハイブリッドを誘導した。この後、ストレプトアビジンペルオキシダーゼを反応させ、プローブにペルオキシダーゼを結合させた後に、Tyramid-ビオチンを用い周囲のタンパク質をビオチンラベルしプローブ検出感度の増加を図った。更に、ストレプトアビジンペルオキシダーゼを反応させた後に、tyramidとAlexa555色素の化合物を反応させ、プローブの蛍光色素ラベルを試みた。しかし、プローブの検出はできなかった。また、プローブの特異性を増すためにLNA塩基を含み、5'側に二分子のビオチンで標識したプローブを作成し同様の手技を行ったが検出できなかった。プローブの検出ができなかった原因として、ビオチン標識の少なさが考えられたため、今後はプローブの標識法を改変するなどして検出の感度を上げていく予定である。

10. キーワード

- (1) エピジェネティクス (2) DNAメチル化 (3) 細胞分化
- (4) 核構造 (5) (6)
- (7) (8)

(裏面に続く)

11. 研究発表（平成21年度の研究成果）

〔雑誌論文〕 計(3)件 うち査読付論文 計(1)件

| 著者名 | 論文標 題 | | | |
|-----------------------|----------------|----|------|---------|
| 滝沢琢己 | 神経系におけるゲノム核内配置 | | | |
| 雑誌名 | 査読の有無 | 巻 | 発行年 | 最初と最後の頁 |
| Clinical Neuroscience | 無し | 26 | 2010 | 848-849 |

| 著者名 | 論文標 題 | | | |
|-------------|---------------------|----|------|---------|
| 滝沢琢己、中島欽一 | 神経系細胞における核内機能ドメイン配置 | | | |
| 雑誌名 | 査読の有無 | 巻 | 発行年 | 最初と最後の頁 |
| 実験医学 10月増刊号 | 無し | 27 | 2010 | 146-152 |

| 著者名 | 論文標 題 | | | |
|----------------|---------------------|----|------|---------|
| 滝沢琢己、高木美智、笹岡寛敏 | ゲノムDNAの核内配置と遺伝子発現制御 | | | |
| 雑誌名 | 査読の有無 | 巻 | 発行年 | 最初と最後の頁 |
| 生化学 | 有り | 82 | 2010 | 143-149 |

〔学会発表〕 計(14)件 うち招待講演 計(2)件

| 発表者名 | 発表標 題 | |
|-------------------------|-----------------------------|------|
| 滝沢琢己, Tom Misteli, 中島欽一 | アストロサイト特異的遺伝子GFAPの核内配置と転写活性 | |
| 学会等名 | 発表年月日 | 発表場所 |
| 第3回日本エピジェネティクス研究会年会 | 2009年5月22日 | 東京都 |

| 発表者名 | 発表標 題 | |
|---------------------|--------------------------------|------|
| 笹岡寛敏, 滝沢琢己, 中島欽一 | ニューロンでの遺伝子発現におけるエピジェネティック修飾の解析 | |
| 学会等名 | 発表年月日 | 発表場所 |
| 第3回日本エピジェネティクス研究会年会 | 2009年5月22日 | 東京都 |

| 発表者名 | 発表標 題 | |
|-------------------|-----------------------------|------|
| 滝沢琢己, Tom Misteli | アストロサイト特異的遺伝子GFAPの核内配置と転写活性 | |
| 学会等名 | 発表年月日 | 発表場所 |
| 第8回 核ダイナミクス研究会 | 2009年6月19日 | 伊豆市 |

| 発表者名 | 発表標 題 | |
|----------------|---|------|
| 滝沢琢己, 中島欽一 | アストロサイト特異的遺伝子GFAP発現制御に関するDNAメチル化と遺伝子座核内配置 | |
| 学会等名 | 発表年月日 | 発表場所 |
| 第52回日本神経化学学会大会 | 2009年6月22日 | 渋川市 |

| 発表者名 | 発表標 題 | |
|---|--|------|
| Takizawa T, Nakashima K, Gudla RP, Lockett S, Misteli T | Allele-specific nuclear positioning of the monoallelically expressed astrocyte marker GFAP | |
| 学会等名 | 発表年月日 | 発表場所 |
| 第24回内藤コンファレンス | 2009年6月23日 | 札幌市 |

| | | |
|--|--|------------------|
| 発表者名 | 発表標題 | |
| Takizawa T, Taga T, Misteli T, Nakashima K | DYNAMIC CHANGES IN DNA METHYLATION AND SPATIAL POSITIONING OF AN ASTROCYTE SPECIFIC GENE,GFAP DURING ASTROCYTE DIFFERENTIATION | |
| 学会等名 | 発表年月日 | 発表場所 |
| ISSCR 7th Annual Meeting | 2009年7月8日 | Barcelona, Spain |

| | | |
|------------------------|-----------------------------|------|
| 発表者名 | 発表標題 | |
| 高木美智, 笹岡寛敏, 滝沢琢己, 中島欽一 | ニューロン活動依存的に発現する遺伝子の核内空間配置解析 | |
| 学会等名 | 発表年月日 | 発表場所 |
| 第82回日本生化学会大会 | 2009年10月23日 | 神戸市 |

| | | |
|-----------------------|--------------------------------|------|
| 発表者名 | 発表標題 | |
| 笹岡寛敏, 滝沢琢己, 木村宏, 中島欽一 | ニューロンでの遺伝子発現におけるエピジェネティック修飾の解析 | |
| 学会等名 | 発表年月日 | 発表場所 |
| 第82回日本生化学会大会 | 2009年10月23日 | 神戸市 |

| | | |
|---|--|------|
| 発表者名 | 発表標題 | |
| Takizawa T, Sasaoka H, Takagi M, Kimura H, Nakashima K | The spatio-temporal regulation of activity-dependent genes in post-mitotic neurons | |
| 学会等名 | 発表年月日 | 発表場所 |
| The 4th International Workshop on Cell Regulations in Division and Arrest | 2009年11月29日 | 沖縄 |

| | | |
|-----------------------------|---|------|
| 発表者名 | 発表標題 | |
| 裏山悟司, 滝沢琢己, 堀由貴奈, 神山淳, 中島欽一 | Analysis of DNA methylation-independent regulatory mechanisms of astrocyte specific gene expression | |
| 学会等名 | 発表年月日 | 発表場所 |
| 第32回日本分子生物学会年会 | 2009年12月9日 | 横浜市 |

| | | |
|-----------------------------|--|------|
| 発表者名 | 発表標題 | |
| 佐野坂司, 犬伏浩規, 神山淳, 滝沢琢己, 中島欽一 | A source of astrocyte-inducing cytokines in the developing mouse brain | |
| 学会等名 | 発表年月日 | 発表場所 |
| 第32回日本分子生物学会年会 | 2009年12月9日 | 横浜市 |

| | | |
|-----------------------|---|------|
| 発表者名 | 発表標題 | |
| 笹岡寛敏, 滝沢琢己, 木村宏, 中島欽一 | Analysis of chromatin modifications and transcriptional regulations of activity-dependent genes in post-mitotic neurons | |
| 学会等名 | 発表年月日 | 発表場所 |
| 第32回日本分子生物学会年会 | 2009年12月9日 | 横浜市 |

| | | |
|------------------------|-----------------------------|------|
| 発表者名 | 発表標題 | |
| 高木美智, 滝沢琢己, 笹岡寛敏, 中島欽一 | ニューロン活動依存的に発現する遺伝子の核内空間配置解析 | |
| 学会等名 | 発表年月日 | 発表場所 |
| 第32回日本分子生物学会年会 | 2009年12月9日 | 横浜市 |

| | | | |
|-----------------|---|------|--|
| 発表者名 | 発表標題 | | |
| Takumi Takizawa | The spatiotemporal regulation of activity-dependent genes in post-mitotic neurons | | |
| 学会等名 | 発表年月日 | 発表場所 | |
| 第32回日本分子生物学会年会 | 2009年12月9日 | 横浜市 | |

【図書】 計 (0) 件

| | | | | | | |
|-----|---|-------|--|--|--|--|
| 著者名 | 出版社 | | | | | |
| | | | | | | |
| 書名 | 発行年 | 総ページ数 | | | | |
| | <table border="1"> <tr> <td> </td> <td> </td> <td> </td> </tr> </table> | | | | | |
| | | | | | | |

12. 研究成果による産業財産権の出願・取得状況

【出願】 計 (0) 件

| 産業財産権の名称 | 発明者 | 権利者 | 産業財産権の種類、番号 | 出願年月日 | 国内・外国の別 |
|----------|-----|-----|-------------|-------|---------|
| | | | | | |

【取得】 計 (0) 件

| 産業財産権の名称 | 発明者 | 権利者 | 産業財産権の種類、番号 | 取得年月日 | 国内・外国の別 |
|----------|-----|-----|-------------|-------|---------|
| | | | | | |

13. 備考

※ 研究者又は所属研究機関が作成した研究内容又は研究成果に関するwebページがある場合は、URLを記載すること。

| |
|--|
| |
|--|