

析する。

3-2. 当初計画・目標に対して達成の見込み:平成18年度の主要目標であったマウス細胞株での各実験系の確立は概ね達成されつつある。polyclonal抗体（自作）での内在性ZFATタンパクの検出に成功しており、ZFAT発現様式の取得に関しても目標達成が見込める。横軸グループの協力により当初計画より早い段階でZFAT相互作用候補因子が同定されたが、その検証実験の結果を待つ必要がある。新規DNA結合性タンパクであるZFATの直接的な標的ゲノム部位については、上述の解析に加え、発現アレイ解析データやZFAT結合性合成DNA配列の情報を利用することで同定作業の効率化を図りたい。

4. プロジェクトの中での研究の位置づけ:本課題では免疫システム及びそこでの自己寛容の破綻により生ずる自己免疫疾患に関する転写因子に焦点をあてたネットワーク解析研究を実施している。これまでに転写ネットワーク解析系を構築してきたGNP横軸研究グループとの積極的な連携により、研究の効率的な推進を図っている。

【平成19年度計画予定】

実施項目	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月
ZFAT発現様式の解析	正常個体・TGマウス・ヘテロマウス(Zfat ^{+/-})の解析											
発現アレイ解析	パスウェイ解析・マウス由来免疫担当細胞のアレイ解析											
ZFAT相互作用因子の同定	ZFAT相互作用候補因子の検証実験						共精製によるZFAT相互作用因の検索					
ZFAT-DNA相互作用解析	ChIP-chip解析・候補標的部位の検証実験											

研究課題： SETドメイン分子によるゲノムネットワーク構築と生命機能制御

研究代表者： 京都大学 ウイルス研究所 眞貝 洋一

1. 当初計画・目標

我々の生体機能をネットワークという観点から理解することにおいて、各細胞のヒストン化学修飾情報（ヒストンコード）をゲノムワイドレベルでモニタリングすることが強く求められている。そこで、まだ機能が明らかにされていないヒストンメチル化酵素・SETドメイン分子に焦点を絞り、この分子がどのようなヒストンメチル化コードをどのようなクロマチン領域に封印するのかをChIP-chip法を用いてゲノムワイドで解明し、どのようなクロマチン生命現象を制御しているのか、さらに生体内のどのような生命機能を制御するのかをモデルマウスを作成・解析することで明らかにする。

2. 現状、進捗状況、成果

SETドメイン分子のサブファミリーであるPRDM分子群のPRDM5, 8に焦点を絞り、研究を開始した。これまでに、特異抗体を作成し、生化学的解析を行い、ノックアウトマウスの作成を試みた。ChIP-chip法によるタイリングアレイ解析系を確立し、PRDM5, 8のゲノムワイドな標的遺伝子領域の検索を開始できる状況になった。

3. 本年度計画、本年度計画予定

研究項目1 PRDM分子に対する特異抗体の開発

平成19年度は、PRDM5, 8以外のPRDM分子群に対する特異抗体の作成を、昨年引き続き東大先端研の浜窪隆雄・児玉龍彦研究室との共同研究で行う。

研究項目2 PRDM5,8を含むSETドメイン分子の生化学的解析、PRDMならびにヒストン化学修飾等のChIP-chip法によるタイリングアレイ解析

①PRDM5, 8の標的遺伝子の探索を様々な細胞を用いてゲノムワイドに行う。同時に、ヒストン化学修飾特異的抗体を用いて、PRDM5, 8標的領域のヒストン化学修飾を詳細に検討する。

②リコンビナントPRDM5, 8或いは特異抗体によって回収された内因性のPRDM5, 8(複合体)を用いて、PRDM5, 8(複合体)の性状を生化学的に解析する。

③PRDM分子群を含むSETドメイン分子の細胞機能制御における役割を明らかにするために、SETドメイン分子のノックダウンを行い、ヒト細胞株でのノックダウンの影響を検討する。

研究項目3 PRDM5,8ノックアウトマウスの作成と表現型の解析

昨年を引き続いて、PRDM5, 8のシンプルノックアウトおよびコンディショナルノックアウトマウスの作成を試みる。今年度後半までには、PRDM5ノックアウトマウスとPRDM8ヘテロノックアウトES細胞の樹立を見込んでいる。

4. プロジェクトの中での研究の位置づけ

本研究では、ヒストンメチル化コードの状況をゲノムワイドで網羅的に解析するので、その解析結果は本プロジェクト参画の他の個別生命機能研究者にも有用な情報となろう。さらに、このヒストンメチル化コードを記す新規リジンメチル化酵素の（コンディショナル）ノックアウトマウスを作成し、本プロジェクト参画の他の個別生命機能研究者に優先して供給するので、さらに有機的な研究が展開されると考える。

【平成19年度計画予定】

計画項目	実施期間（19年4月～20年3月）												
	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	
1. PRDM分子に対する特異抗体の開発	←												→
2. SETドメイン分子の生化学的解析、PRDM、ヒストン化学化修飾等のChIP-chip法によるタイリングアレイ解析	←												→
①ChIP-chip解析	←												→
②PRDM5,8複合体解析						←							→
③ノックダウン解析	←												→
3. PRDM5,8ノックアウトマウスの作成と表現型の解析	←												→

研究課題：免疫系細胞高次機能を司る DOCK2 シグナルネットワークの解明

研究代表者：九州大学生体防御医学研究所 福井 宣規

1. 当初計画・目標

DOCK2 はケモカイン受容体や T 細胞抗原受容体 の下流で機能する Rac 活性化のマスター分子であり、その欠損により移植片拒絶や自己免疫発症が阻止できることが実証されている。本研究では、受容体刺激から Rac 活性化に至る DOCK2 シグナルネットワークの全貌を解明することで、DOCK2 シグナルを標的とした新規免疫抑制剤開発の分子基盤を提供することを目標としている。このため具体的には、① DOCK2 の機能ドメイン及びそれに刺激依存的あるいは恒常的に会合する分子の同定、② DOCK2 の新しい機能やその制御機構の解明、③ DOCK2 の細胞内動態を制御するシグナル伝達系の解明、④ DOCK2-Rac シグナルが制御する遺伝子群の同定、⑤ DOCK2 の発現制御機構の解明を行う。

2. 現状、進捗状況、成果

① DOCK2 が好中球ケモアトラクタント受容体の下流で機能する主要な Rac 活性化分子であり、遊走や活性酸素産生に重要な役割を演じること、② 好中球の遊走において DOCK2 が PIP3 と会合し、PI3K 依存性に細胞膜に移行すること、③ DOCK2 が T 細胞のリンパ節への移入のみならず、リンパ節内での運動やリンパ節からの移出をも制御すること、④ DOCK2 が V・14 NKT 細胞の分化・成熟に必須であることを明らかにした。また、⑤ 刺激依存的に DOCK2 と会合する候補分子を新たに数種類同定すると共に、プロテオーム解析の過程で、⑥ ケモカイン刺激に伴い DOCK2 が少なくとも 4 カ所でリン酸化修飾を受ける可能性を見いだした。

3. 本年度計画

- ① DOCK2機能ドメインと会合分子の同定およびその生化学的解析
- ② DOCK2の機能とその制御機構の解明
- ③ DOCK2細胞内動態の制御機構の解明
- ④ DOCK2-Racシグナルが制御する遺伝子群の同定
- ⑤ DOCK2の発現制御機構の解明

につき研究を進める。

これまで研究は比較的順調に進行しており、未発表のものも含め新しいDOCK2の機能や制御機構、会合分子を明らかにすることができた。今後は学術的なインパクトを鑑み、各プロジェクトの比重を調整しつつ研究を遂行する予定である。

4. プロジェクトの中での研究の位置づけ

「個別生命機能の解析」においては、生命高次機能を司る' Key' となる分子を中心にそのネ

研究課題： 蛋白の可視化と機能的複合体解析で解くゲノム安定性ネットワーク

研究代表者： 東北大学 加齢医学研究所 安井 明

1. 当初計画・目標、途中計画変更等あればその旨記載

ゲノム損傷に対する蛋白質ネットワークを蛋白の可視化と機能的複合体解析で解明し、ゲノム損傷によりもたらせる癌、老化、遺伝病などのゲノム疾患の原因解明と治療のターゲット蛋白質を明らかにするのが目標である。今年度はこれまでの計画を推進しながら、それらに加えて、ゲノム損傷に応答する機構と転写との共通な機構を解析する研究を課題に追加する。

2. 現状、進捗状況、成果

① 新規蛋白質の機能解析：

ヒトゲノムの安定性に重要な役割を果たしている多くの新規蛋白質とその複合体を同定し、新規機能を発見した (EMBO J. 26, 2094-2103, 2007)。

② 芋蔓式新規蛋白質同定：

疾患に関わる重要な多機能の既知蛋白質から出発し、複合体解析で新規の蛋白質を同定し新規の機能を発見する。例えば、クロマチンのポリADPリボシル化蛋白質 PARPなどやウエルナー早老症の原因となるWRN蛋白について解析を進めている。

③ 網羅的新規蛋白質同定：

GFP-融合ヒト核蛋白質をヒト細胞で発現させ、局所的なレーザー照射で単一ヒト細胞の核の一部に特異的な損傷を作り、そこに集積する多くの新規蛋白質を発見し、それらの機能を解析している。

3. 本年度計画、当初計画・目標に対して達成の見込み：

初年度に重要な発見や研究方法の開発があり、順調に研究は進展している。

本年度計画予定 (スケジュール表で)

4. プロジェクトの中での研究の位置づけ：

ゲノム安定性ネットワークの解明は、癌や老化、遺伝病などのゲノム疾患の解明と治療に必須の研究であるが、同時にこの全体プロジェクトの主なテーマである転写制御とも深く関わることで、研究の過程で分ってきた。共通に働く因子として、PARP や WRN と転写の関係が明らかになり、また、転写と修復がクロマチンの開閉を伴う共通した細胞内プロセスをもつことから、転写と修復に共通なクロマチンリモデリング過程を可視化解析とプロテオミクスで明らかにし、細胞内での基本的な修復と転写機構の理解に貢献する。

