

グループヘッド Head

石井 俊輔 (理博)

Shunsuke ISHII, Ph.D.



# 石井連携研究グループ(石井分子遺伝学研究室)

Ishii Research Collaborative Group

## ミッションと事業概要 Mission

**私**達の体の発生・分化や防御・恒常性の維持のためには、巧みな遺伝子の発現制御、特に「転写の制御」、が必要である。当連携研究グループでは、発生・生体防御・疾患などに関連する転写制御因子の機能をマウスやショウジョウバエの個体レベルで研究している。これらの遺伝子発現ネットワーク解析に係る研究を通して、バイオリソースセンターのリソース業務に貢献することを目指している。

For development, differentiation, defense against pathogen, and homeostasis, the elegant regulation of gene expression, especially transcriptional control, is required. We are investigating the physiological role of transcription regulators involved in development, immunity, and various diseases using mice and fly. Through analysis of gene expression network by these transcription regulators, we are aiming to contribute to the Bioresource Center.

## 平成21年度の成果

Research and Development in 2009-2010

### (1) 転写制御因子として機能する核内がん遺伝子産物の研究

核内がん遺伝子産物c-Mybは、未分化造血細胞において、細胞周期G1/S期の移行に必要な遺伝子や、アポトーシスを防ぐ遺伝子の転写を誘導し、細胞増殖を促進する。しかし、c-Myb活性を正に制御するメカニズムについては分かっていなかった。私達は、c-Mybに結合する因子を解析し、リボソームタンパク質L4(RPL4)が直接c-Mybに結合し、c-Myb活性を促進することを見出した。細胞内では、ほとんどのRPL4は核小体に局在しているが、一部のRPL4が核質にも局在し、c-Mybと結合する。そして、細胞増殖因子の刺激や、栄養シグナルが豊富に存在する場合には、多くのRPL4が核質に局在し、c-Myb活性がより強くなることが示唆された。このように、c-Myb活性が正に制御されるメカニズムの一端が明らかにされた。

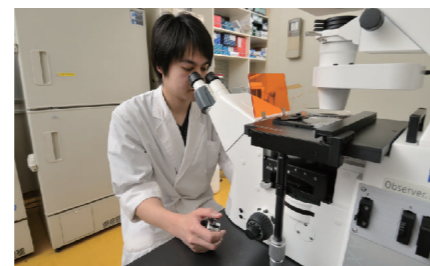
### (1) Nuclear oncogene products as a transcriptional regulator

Vertebrate c-Myb positively regulates cell cycle progression via inducing a group of target genes which are required for G1/S transition. However, it remains unknown whether specific signals positively regulate c-Myb activity. We have found that ribosomal protein L4 (RPL4) directly binds to c-Myb and positively regulate its activity. Most of RPL4 are localized in the

nucleoli, while certain amounts of RPL4 are localized in the nucleoplasm and bind to c-Myb. Serum starvation or 2-deoxyglucose treatment induces the movement of RPL4 from the nucleoplasm to the nucleoli. These results suggest that growth factors and nutritional signals positively regulate c-Myb activity via modulating the subcellular localization of RPL4.

### (2) 細胞外刺激による遺伝子発現誘導の研究

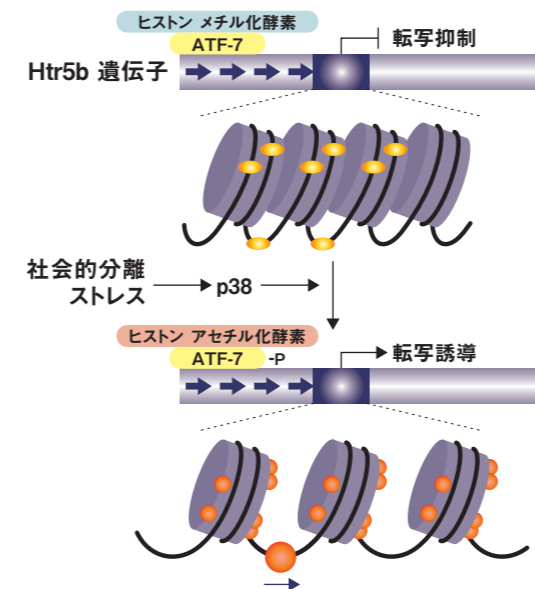
ATF-2ファミリーメンバーの一つATF-7のノックアウトマウスが、不安様行動を示す事を見出した。ATF-7変異体の中脳では、セロトニン受容体5b(Htr5b)の発現が上昇していた。ATF-7は、Htr5b遺伝子の転写制御領域に結合し、ヒストンH3K9トリメチル化酵素ESETをリクルートし、ヒストンH3K9のメチル化を亢進して、転写を抑制することが示された(図1)。ATF-7変異体の行動異常は、野生型マウスを単独飼育し、社会的分離ストレスを与えた際に観察される行動異常の一部と似通っていた。そして、社会的分離ストレスによってHtr5b遺伝子の発現が顕著に誘導されることが示された。さらに、社会的分離ストレスによって、ATF-7がリン酸化され、Htr5b遺伝子の転写制御領域から遊離することも示された。このように、社会的分離ストレスの



ような長期的なストレスが行動異常を誘導するメカニズムの一端が明らかにされた。

### ATF-7によるHtr5b遺伝子のエピジェネティック制御(図1)

Epigenetic regulation of Htr5b gene by ATF-7. (Fig.1)



ATF-7はヒストンメチル化を介して、Htr5b遺伝子の転写を抑制している。社会的分離ストレスにより、ATF-7がリン酸化されると、転写が亢進し、マウスは行動異常を呈する。

ATF-7 binds to the transcriptional regulatory region of the Htr5b gene and suppresses its transcription by recruiting histone H3-K9 methyltransferase. Social isolation stress induces phosphorylation of ATF-7, leading to a release of ATF-7 from the Htr5b gene and an induction of Htr5b transcription. This causes the abnormal behavior of mice.

### (2) Induction of gene expression by extracellular stimuli

The transcription factor ATF-7 is structurally related to ATF-2, which is activated by various stresses, including inflammatory cytokines. We have found that Atf-7-deficient mice exhibit abnormal behaviors and increased 5-HT receptor 5B (Htr5b) mRNA levels in the dorsal raphe nuclei. ATF-7 silences the transcription of Htr5b by directly binding to its 5'-regulatory region, and mediates histone H3-K9 trimethylation via interaction with the ESET histone methyltransferase. Isolation-reared wild-type (WT) mice exhibit abnormal behaviors that resemble those of Atf-7-deficient mice. Upon social isolation stress, ATF-7 in the dorsal raphe nucleus is phosphorylated via p38 and is released from the Htr5b promoter, leading to the upregulation of Htr5b. Thus, ATF-7 may have a critical role in gene expression induced by social isolation stress.

### (3) ショウジョウバエを用いた遺伝学的解析

ATF-2の分裂酵母ホモログAtf1は、ヘテロクロマチン形成に関与することが報告されている。高等動物におけるヘテロクロマチン形成にATF-2が関与するかどうかを明らかにするため、ショウジョウバエATF2(dATF-2)を同定し、変異体を同定した。ヘテロクロマチン形成を解析するために、Position Effect Variegationのアッセイ系で、dATF-2変異の影響を解析した。その結

果、dATF-2はヘテロクロマチン形成に必須であることが明らかとなった。そして、ストレスによってdATF-2がリン酸化されると、ヘテロクロマチン領域から、dATF-2が遊離し、ヘテロクロマチン形成が阻害されることが示された。このように、ストレスによるヘテロクロマチン形成の制御機構の一端が明らかにされた。

### (3) Genetic analysis of transcriptional regulators by using Drosophila

Fission yeast homolog of ATF-2, Atf1, is involved in the heterochromatin formation. To examine whether ATF-2 family of transcription factor contributes to heterochromatin formation in higher organisms, we identified Drosophila homolog of ATF-2, dATF-2, and its mutant. In the position effect variegation assays, dATF-2 mutation abrogated the heterochromatin-dependent silencing of wt gene expression, indicating that dATF-2 is required for heterochromatin formation. Furthermore, stresses which can induce phosphorylation of dATF-2, leads a release of dATF-2 from the heterochromatin and a disruption of heterochromatin. Thus, these results suggest that heterochromatin structure is regulated by stresses via ATF-2.

## 職員とメンバー構成 Members

主任研究員 Laboratory Head

石井 俊輔 Shunsuke ISHII, Ph.D.

副主任研究員 Vice Chief Scientist

前川 利男 Toshio MAEKAWA, Ph.D.

専任研究員 Senior Research Scientist

野村 照明 Teruaki NOMURA, Ph.D.

高木 豪 Tsuyoshi TAKAGI, Ph.D.

品川 敏恵 Toshie SHINAGAWA, Ph.D.