1B4b　イオントラップ型質量分析計を用いたヒストンの翻訳後修飾の解明

広島大院理・量子生命科学プロジェクト研究センター）
○北島幸太郎・宮下恵明・泉　俊輔・平田敏文

ヌクレオソームを構成するコアヒストン分子のＮ末端テールは様々な翻訳後修飾を受けることが知られている。近年, それらの修飾は幾つかが組み合わさって遺伝子の発現調節等種々の生体機能と密接に関係していることが明らかになってきている。本研究では、ヒストンの翻訳後修飾を網羅的に解析するため、ヒストンの翻訳後修飾位置を質量分析法により解析する方法論の確立を行った。さらにウニの初期胚を用いて発生の諸段階におけるヒストンH4 の翻訳後修飾の解析を行った。

仔ウシ胸腺由来のヒストン画分を 15%SDS‐PAGE により分離し、得られた各バンドを切り出した後、定法 [1]に従い、トリプシンを用いてゲル内消化を行った。これを CHCA および DHBA をマトリックスとして MALDI-TOF MS 測定を行った。その結果、分子量が 1000 以下のペプチドフラグメントは、マトリックスとして CHCA を用いた場合よりも DHBA を用いた場合の方が、感度、分解能ともに良いことが明らかとなった。ヒストンテール部分は塩基性アミノ酸に富み、トリプシンによって高度に断片化されることから、ヒストンの翻訳後修飾位置の決定には、DHBA を用いて分析することとした。

発生の諸段階におけるヒストンの翻訳後修飾を明らかにするために、ウニの胞胚期と原腸胚初期の細胞からそれぞれ核を取り出し、これを硫酸抽出することで、粗ヒストン画分を得た。これを 15%SDS‐PAGE により分離し、ヒストン H4 の翻訳後修飾を MALDI-TOF MS 測定および MS/MS 測定により明らかにした。その結果、図１に示すように、胞胚期ではヒストンＨ４のアセチル化はＮ末端の４つのリジン残基で生じており、そのアセチル化には R3 のメチル化を伴わないことがわかった。一方、原腸胚初期のヒストンＨ４では K5 のアセチル化には R3 のメチル化が伴っていることが示された。

以上の結果より、動物において発生のごく初期にはヒストンテール部分は高頻度にアセチル化されていることが明らかになった。一方、原腸胚以降ではヒストンのメチル化は安定で、体細胞分裂時に維持されていることが示唆される。今後、H3、H2A および H2B など他のヒストンテールに関しても網羅的なプロテオミクス解析を行い、発生のエピジェネティクスの解明を図りたい。

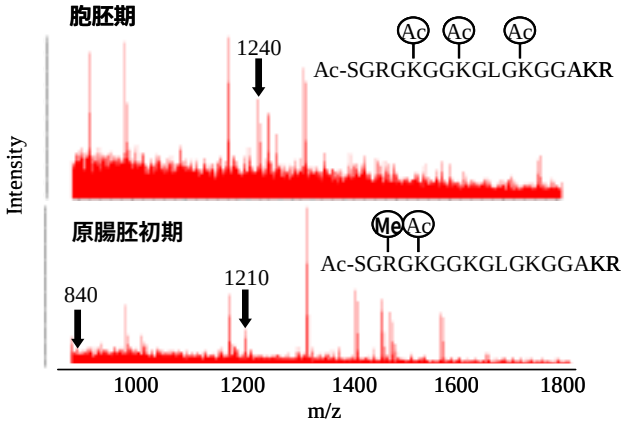

図1.胞胚期と原腸胚初期のヒストンH4のMSスペクトル

1)　T. Yamasaki *et al.*, J. Bio. Chem, **279(22)**, 22848 (2004).