

関連なく Hox 遺伝子座に結合しえ、抑制されている領域ではより完全な複合体が形成されていることを示している。また、転写が抑制されている領域においても、ヒストン H3K9 は顕著にアセチル化されていたことから、ショウジョウバエで観察されたのと同様に転写にコンピテントな領域において、ポリコーム群は転写抑制に寄与していることが示された。このようなエピジェネティックなタグは、8.5 日胚では顕著に見られず、9.5 日胚以降に見られる。

Hoxb8/LacZ トランスジーンに対し、Mell18 と Edr1 (Rae28/Mph1) 変異は転写の活性化を抑制する。この転写の不活性化は、ヒストン H3K9 のメチル化の誘導とアセチル化の低下と相関することを明らかにした。この事実は、転写が活性化された領域においても、ポリコーム群複合体は、そのコンピテンスを維持するために必要であることを示した。

Mell18 を含むポリコーム群複合体のコア成分が、どのように転写のためのコンピテンス維持に寄与しているのか、その分子機序の解明が今後の重要課題である。また、ポリコーム群の機能が、他の様々な核内の機能ドメインによって増強または抑制されうるのかについての解析も、本課題の結果として新たに提起された問題点である。

#### D. 発表

- Sudo, H., Takahashi, Y., Tonegawa, A., Arase, Y., Aoyama, H., Mizutani-Koseki, Y., Moriya, H., Wilting, J., Christ, B., and Koseki, H. (2001) Inductive signals from the somatopleure mediated by bone

morphogenetic proteins are essential for the formation of the sternal component of avian ribs. *Dev. Biol.* 232:284-300

2. Isono, K., Abe, K., Tomaru, Y., Okazaki, Y., Hayashizaki, Y. and Koseki, H. (2001) Molecular cloning, genetic mapping, and expression of the mouse Sf3b1 (SAP155) gene for the U2 snRNP component of spliceosome. *Mammalian Genome.* 12:192-198

3. Koizumi, K., Nakajima, M., Yuasa, S., Saga, Y., Sakai, T., Kuriyama, T., Shirasawa, T. and Koseki, H. (2001) The role of Presenilin1 during somite segmentation. *Development.* 128:1391-1402

4. Fukamachi, H., Fukuda, K., Suzuki, M., Furumoto, T., Ichinose, M., Shimizu, S., Tsuchiya, S., Horie, S., Shiokawa, K., Suzuki, Y., Saito, Y., Watanabe, K., Taniguchi, M., and Koseki, H. (2001) Mesenchymal transcription factor FKH6 controls gastric epithelial development and differentiation. *Biochem Biophys Res Commun* 280 :1069-1076

5. Akasaka, T., van Lohuizen, M., van der Lugt, N., Mizutani-Koseki, Y., Kanno, M., Taniguchi, M., Vidal, M., Alkema, M., Berns, A. and Koseki, H. (2001) Mice doubly deficient for the Polycomb-Grouse genes Mell18 and Bmil reveal synergy and requirement for maintenance but not initiation of Hox gene expression. *Development.* 128:1587-1597

6. Yamamoto, K., Fujii, R., Toyofuku, Y., Saito, T., Koseki, H., Hsu, V. W. and Aoe, T. (2001). The KDEL receptor mediates a retrieval mechanism that contributes to quality control at the endoplasmic reticulum. *EMBO J.* 20:3082-3091

7. Kimura, M., Koseki, Y., Yamashita, M., Watanabe, N., Shimizu, C., Katsumoto, T., Kitamura, T., Taniguchi, M., Koseki, H. and Nakayama, T. (2001) Regulation of Th2 Cell Differentiation by mel-18, a Mammalian Polycomb Group Gene. *Immunity.* 15:275-287

8. Ogita, J., Isogai, E., Sudo, H., Sakiyama, S., Nakagawara, A., Koseki, H. (2001) Expression of the Dan gene during chicken embryonic development. **Mechanisms of Development** 109:363-365
9. Nakai, D., Yuasa, S., Takahashi, M., Shimizu, T., Asaumi, S., Isono, K., Takao, T., Suzuki, Y., Kuroyanagi, H., Hirokawa, K., Koseki, H., Shirasawa, T. (2001) Mouse homologue of coq7/clk-1, longevity gene in *Caenorhabditis elegans*, is essential for coenzyme Q synthesis, maintenance of mitochondrial integrity, and neurogenesis. **Biochem Biophys Res Commun.** 289:463-471
10. Nakayama, T., Kasprowicz, D.J., Yamashita, M., Schubert, L.A., Gillard, G., Kimura, M., Didierlaurent, A., Koseki, H., and Ziegler, S.F. (2002) The Generation of Mature, Single-Positive Thymocytes *In Vivo* is Dysregulated by CD69 Blockade or Overexpression. **J Immunol.** 168:87-94.
11. Miki, T., Suzuki, M., Shibasaki, T., Uemura, H., Sato, T., Yamaguchi, K., Koseki, H., Iwanaga, T., Nakaya, H., Seino, S. (2002) Mouse model of Prinzmetal angina by disruption of the inward rectifier *Kir6.1*. **Nature Med.** 8:466-72.
12. Murakami, H., Okawa, A., Yoshida, H., Nishikawa, S., Moriya, H., Koseki, H. (2002) Elbow knee synostosis (*Eks*): A new mutation on mouse Chromosome 14. **Mammalian Genome** 13:341-344.
13. O-Wang, J., Kajiwara, K., Kawamura, K., Kimura, M., Miyagishima, H., Koseki, H., Tagawa, M. (2002) An essential role for REV3 in mammalian cell survival: absence of REV3 induces p53-independent embryonic death. **Biochem Biophys Res Commun.** 293(3):1132-1137.
14. Ohara, O., Nagase, T., Mitsui, G., Kohga, H., Kikuno, R., Hiraoka, S., Takahashi, Y., Kitajima, S., Saga, Y., Koseki, H. (2002) Characterizaion of size-fractionated cDNA libraries generated by the *in vitro* recombination-assisted method. **DNA Research.** 9:47-57.
15. Yamaki M, Isono K, Takada Y, Abe K, Akasaka T, Tanzawa H, Koseki H. (2002) The mouse *Edr2* (*Mph2*) gene has two forms of mRNA encoding 90- and 36-kDa polypeptides. **Gene**; 288:103-110
16. Suzuki, M., Mizutani-Koseki, Y., Fujimura, Y., Miyagishima, H., Kaneko, T., Takada, Y., Akasaka, T., Tanzawa, H., Takihara, Y., Nakano, M., Masumoto, H., Vidal, M., Isono K. and Koseki, H. (2002) Involvement of the Polycomb-group gene Ring1B in the specification of the anterior-posterior axis in mice. **Development** 129:4171-4183.
17. Zhang Y, Miki T, Iwanaga T, Koseki Y, Okuno M, Sunaga Y, Ozaki N, Yano H, Koseki H., Seino S. (2002) Otx3: identification, tissue expression and functional characterization of a novel member of the Otx family. **J Biol Chem.** 277:28065-28069.
18. Ishigami, A., Fujita, T., Handa, S., Shirasawa, T., Koseki, H., Kitamura, T., Enomoto, N., Sato, N., Shimosawa, T., and Maruyama, N. (2002) Senescence marker protein-30 knockout mouse liver are highly susceptible to TNF- and Fas-mediated apoptosis. **Am. J. Pathol.** 161:1273-1281.
19. Akasaka T, Takahashi N, Suzuki M, Koseki H., Bodmer R and Koga H. (2002) MBLR, a new RING finger protein resembling mammalian Polycomb gene products, is regulated by cell cycle-dependent phosphorylation. **Genes Cells.** 7:835-850.
20. Takeda U, Utani A, Wu J, Adachi E, Koseki H., Taniguchi M, Matsumoto T, Ohashi T, Sato M, and Shinkai H. (2002) Targeted Disruption of Dermatopontin Causes Abnormal Collagen Fibrillogenesis. **J Invest Dermatol.** 119:678-683.
21. Yuasa S, Nakajima M, Aizawa H, Sahara

- N, Koizumi K, Sakai T, Usami M, Kobayashi S, Kuroyanagi H, Mori H, Koseki H and Shirasawa T. (2002) Impaired cell cycle control of neuronal precursor cells in the neocortical primordium of presenilin-1-deficient mice. *J Neurosci Res* 70:501-513
22. Shirasawa T, Izumizaki M, Suzuki YI, Ishihara A, Shimizu T, Tamaki M, Huang F, Koizumi KI, Iwase M, Sakai H, Tsuchida E, Ueshima K, Inoue H, Koseki H, Senda T, Kuriyama T and Homma I. (2003) Oxygen affinity of hemoglobin regulates O<sub>2</sub> consumption, metabolism, and physical activity. *J Biol Chem* 278:5035-5043
23. Fukuda K., Yoshida H., Sato T., Furumoto T., Mizutani-Koseki Y., Suzuki Y., Saito Y., Takemori T., Kimura M., Sato H., Nakayama T., Taniguchi M., Nishikawa S. and Koseki H. (2003) Mesenchymal expression of Foxl1, a winged helix transcriptional factor, regulates generation and maintenance of gut associated lymphoid organs. *Dev. Biol.* 255:278-289
24. Wang T, Tamakoshi, T, Uezato T, Syu F, Kanzaki-Kato, N, Fu Y, Koseki, H., Yoshida N, Sugiyama T, and Miura N. (2003) Forkhead transcription factor Foxf2 (LUN)-deficient mice exhibit abnormal development of secondary palate. *Dev. Biol.* 259:83-94
25. Yamada R., Mizutani-Koseki Y., Hasegawa T., Osumi N., Koseki H., and Takahashi N. (2003) Cell-autonomous involvement of Mab21/l is essential for lens placode development. *Development*. 130:1759-1770
26. Miyagishima, H., Isono, K., Fujimura, Y., and Koseki, H. (2003) Dissociation of mammalian Polycomb-group proteins, Ring1B and Rae28/Ph1, from the chromatin correlates with configuration changes of the chromatin in mitotic and meiotic prophase. *Histochem Cell Biol*. 120:111-119
27. Nakajima, M., Yuasa, S., Ueno, M., Takakura, N., Koseki, H., and Shirasawa, T. (2003) Abnormal blood vessel development in mice lacking presenilin-1. *Mech. Dev.* 120:657-667
28. Nakamura, Y., Ozaki, T., Koseki, H., Nakagawara, A. and Sakiyama, S. (2003) Accumulation of p27<sup>KIP1</sup> is associated with BMP2-induced growth arrest and neuronal differentiation of human neuroblastoma-derived cell lines. *BBRC*. 307:206-213
29. Murata, K., Inami, M., Hasegawa, A., Kubo, S., Kimura, M., Yamashita, M., Hosokawa, H., Nagano, T., Suzuki, K., Hashimoto, K., Shinkai, H., Koseki, H., Taniguchi, M., Ziegler, S.F., and Nakayama, T. (2003) CD69-null mice protected from arthritis induced with anti-type II collagen antibodies. *International Immunology*. 15:987-992
30. Hoki, Y., Araki, R., Fujimori, A., Ohhata, T., Koseki, H., Fukumura, R., Nakamura, M., Takahashi, H., Noda, Y., Kito, S and Abe, M. (2003) Growth retardation and skin abnormalities of the Recql4-deficient mouse. *Human Mol. Genet.* 12:2293-2299
31. Okazaki N, Kikuno R, Ohara R, Inamoto S, Koseki H, Hiraoka S, Saga Y, Nagase T, Ohara O, Koga H. (2003) Prediction of the coding sequences of mouse homologues of KIAA gene: III. the complete nucleotide sequences of 500 mouse KIAA-homologous cDNAs identified by screening of terminal sequences of cDNA clones randomly sampled from size-fractionated libraries. *DNA Res.* 2003 Aug 31;10(4):167-80.
32. Iwata Y, Koseki H. (2003) Decomposition of hydroxylamine/water solution with added iron ion. *J Hazard Mater.* 2003 Nov 14;104(1-3):39-49.
33. d Graaff W, Tomotsune D, Oosterveen T, Takihara Y, Koseki H, Deschamps J. (2003) Randomly inserted and targeted Hox/reporter fusions transcriptionally silenced in Polycomb mutants. *Proc Natl*

Acad Sci U S A. Nov 11;100(23):13362-7.  
Epub 2003 Oct 31.

34. Kaneko T, Miyagishima H, Hasegawa T, Mizutani-Koseki Y, Isono K, Koseki H. (2003) The mouse YAF2 gene generates two distinct transcripts and is expressed in pre-and postimplantation embryos. *Gene*. Oct 2;315:183-92.

35. Shin T, Kennedy G, Gorski K, Tsuchiya H, Koseki H, Azuma M, Yagita H, Chen L, Powell J, Pardoll D, Housseau F. (2003) Cooperative B7-1/2 (CD80/CD86) and B7-DC costimulation of CD4+ T cells independent of the PD-1 receptor. *J Exp Med*. Jul 7;198(1):31-8.

36. Horie A, Isono K, Koseki H. (2003) Generation of a monoclonal antibody against the mouse Sf3b1 (SAP155) gene product for U2 snRNP component of spliceosome. *Hybrid Hybridomics*. Apr;22(2):117-9.

37. Yamamoto K, Hamada H, Shinkai H, Kohno Y, Koseki H, Aoe T. (2003) The KDEL receptor modulates the endoplasmic reticulum stress response through mitogen-activated protein kinase signaling cascades. *J Biol*

*Chem. Sep* 5;278(36):34525-34532.

38. Okazaki M, Ueda Y, Saito Y, Koseki H, Ohta S, Kikuchi T, Kamiya Y, Amagasa H, Oguchi K. (2003) Increase in plasma fibrinogen and plasminogen activator inhibitor level in diabetic KK and KK-Ay mice. *In Vivo*. Jan-Feb;17(1):5-11.

39. Kondo E, Wakao H, Koseki H, Takemori T, Kojo S, Harada M, Takahashi M, Sakata S, Shimizu C, Ito T, Nakayama T, Taniguchi M. (2003) Expression of recombination-activating gene in mature peripheral T cells in Peyer's patch. *Int Immunol*. Mar;15(3):393-402.

40. Koike J, Wakao H, Ishizuka Y, Sato TA, Hamaoki M, Seino K, Koseki H, Nakayama T, Taniguchi M. (2004) Bone Marrow Allograft Rejection Mediated by a Novel Murine NK Receptor, NKG2L. *J Exp Med*. 2004 Jan 5;199(1):137-144.

(4) 特許出願等  
形質転換動物及びスクリーニング方法（特開2002-82181）

## 長寿遺伝子探索のための遺伝子多型解析応用の検討

分担研究者 村松正明 東京医科歯科大学 難治疾患研究所 教授

### 研究要旨

長寿関連遺伝子を探索する目的でタイピング法は Taqman 法を、ハプロタイプ解析ソフトは LD support を用いて行うことで決定し、小規模サンプルを用いて SNP タイピングから SNP ハプロタイプ構築までを行った。

### A. 研究目的

長寿者の一塩基多型 (SNP) を解析することにより、長寿関連遺伝子を探索することを目的とする。

### B. 研究方法

昨年 SNP の大量タイピングを行うための手法として、Taqman 法またハプロタイプ解析および連鎖不平衡を行うためのソフトウェアを LDSupport を用いることに決定し、一連の解析の流れを小規模サンプルで行った。コリエル(Colliel)社より入手した Caucasian, African American, Japanese の異なる人種のヒト DNA サンプルを 94 検体用い、4 遺伝子に存在する複数の SNP に対する Taqman 試薬を構築し、Applied BioSystem 社 のプロトコールに従ってアッセイした。連鎖不平衡およびハプロタイプ解析ソフトに関しては LDSupport (Dr. Kamatani, Tokyo Womens Medical School)を用いて行った。

### C. 研究結果

選択した 4 つの遺伝子はいずれも 100-200 キロ塩基対の中型～大型の遺伝子であり、それぞれにつき 6—17 SNP を解析した。Taqman 法は SNP 検出の成功率および精度は 99.9% であった。

連鎖不平衡およびハプロタイプ解析ソフトは LDSupport (Dr. Kamatani, Tokyo Womens Medical School)を用いた。連鎖不平衡解析およびハプロタイプ解析を行った結果、少なくとも、この 4 遺伝子に関しては、連鎖不平衡ブロック (LD block) は African American でもっとも短く、Caucasian がそれに続き、Japanese が最も長いことが判った。このことは一部 Lander, E 等の先の報告(Daly et al, High resolution structure of the human genome, Nat. Genet. 2001, 2: 229-232) を追試した結果となった。

#### D. 考察

連鎖不平衡ブロック (LD block) は African American でもっとも短く、Caucasian がそれに続き、Japanese が最も長いことは、一部 Lander, E 等の先の報告 (Daly et al, High resolution structure of the human genome, Nat. Genet. 2001, 2, 229-232) を追試した結果となった。Ldblock を考慮に入れた表現系の違いを検討するのに日本人を対象にすることは有利であることが予想され、長寿関連遺伝子の探索のための基礎データとして有用である。

#### E. 結論

SNP の大量解析に向けた準備段階として、SNP のタイピング方法およびタイピング結果の解析を小規模にて行い検討した。

#### F. 研究発表

村松正明 「ポストゲノム時代の遺伝子検査の展望」第 13 回春季大会記録 Lab CP 21(2);67-69、日本臨床検査専門医会  
2003

村松正明 「遺伝子の個性と医療」第 6  
2 回日本癌学会総会 シンポジウム  
2003.9.25 名古屋

3. 村松正明 「遺伝子の個性を生かした  
医療に向けて」第 26 回日本分子生物学  
会年会シンポジウム 2003.12.10 神戸

#### G. 知的所有権の取得

なし

研究成果の刊行に関する一覧表

池上隆司ほか	活性酸素とスーパーオキサイドディスムターゼ, 総合臨床, 52 (7), 2202-2208, 2003
--------	---