

Title	腫瘍抑制遺伝子SMARCB1による遺伝子発現調節機構に関する研究
Sub Title	Coordinated gene expression regulation by tumor suppressor SMARCB1
Author	中山, タラント ロバート(Nakayama, Robert)
Publisher	慶應義塾大学
Publication year	2018
Jtitle	学事振興資金研究成果実績報告書 (2017.)
JaLC DOI	
Abstract	<p>腫瘍抑制遺伝子SMARCB1を欠損した異常なSWI/SNF複合体による遺伝子発現制御の仕組みを解析するため, SMARCB1欠損がん細胞株にSMARCB1を強制発現させて, 増殖能の変化, RNA-seq法を用いて遺伝子発現の変化, ChIP-seq法を用いてSWI/SNF複合体や各ヒストンマークのゲノム上の結合部位や占拠率の変化を解析した。</p> <p>多くのSMARCB1欠損細胞株でSMARCB1の強制発現により細胞増殖が著しく抑制された。SWI/SNF複合体のサブユニットにはDNA結合部位, ヒストン結合部位が存在するため, 塩化ナトリウムによるDifferential salt extraction法を用いてSWI/SNF複合体のクロマチンとの相互作用を解析したところ, SMARCB1欠損複合体はSMARCB1を含んだ複合体と比較して, 低濃度の塩化ナトリウムでクロマチンと解離した。SWI/SNF複合体の主要なサブユニットに対する抗体を用いたChIP-seq法では, 解析したすべての細胞株においてSMARCB1の強制発現によりSWI/SNF複合体のゲノム上の占有率が有意に増加した。以上の結果より, SMARCB1の欠損はSWI/SNF複合体のクロマチンとの相互作用を不安定化させ, SWI/SNF複合体のゲノム上の占拠率を低下させることで, 遺伝子発現調節の異常をもたらしていることが示唆された。</p> <p>In order to elucidate the underlying mechanism and to identify direct genetic targets of SMARCB1-deficient aberrant SWI/SNF complexes, we comprehensively evaluated the effects of SMARCB1 reintroduction in SMARCB1-deficient cancer cell lines at the levels of proliferation, global transcriptional signature (RNA-seq), and genome-wide localization (ChIP-seq). Reintroduced SMARCB1 significantly suppressed the proliferation of nearly all SMARCB1-deficient cancer cell lines. As SWI/SNF chromatin remodeling complexes contain several DNA and histone-binding domains, we sought to determine whether SMARCB1 loss alters the stability of BAF complexes on chromatin. We used NaCl-based differential salt extraction to determine the relative affinity of BAF complex proteins on chromatin in cells in either empty or SMARCB1 conditions. We found that SMARCB1-deficient complexes in SMARCB1-deficient cancer cells dissociate from chromatin at the low NaCl concentrations, whereas subunits dissociate from chromatin at the high NaCl treatment upon SMARCB1 reintroduction. Results were similar in comparing SWI/SNF complex chromatin affinity in wild-type and SMARCB1Δ/Δ HEK293T cells. To examine the effect of SMARCB1 rescue on SWI/SNF complex targeting and gene regulation, we performed chromatin IP of SWI/SNF complexes followed by sequencing (ChIP-seq) using antibodies to core SWI/SNF complex subunits. We observed a gain of genome-wide SWI/SNF complex occupancy upon rescue of SMARCB1 in SMARCB1-deficient cell lines. These results indicate that the primary biophysical consequence of SMARCB1 loss is decreased affinity of SWI/SNF complexes for chromatin, suggesting alterations in their genome-wide chromatin occupancy and regulatory capacity.</p>
Notes	
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=2017000001-20170277

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the Keio Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

研究代表者	所属	医学部臨床教室	職名	専任講師(有期・医学部)	補助額	300 (A) 千円
	氏名	中山 タラント ロバート	氏名(英語)	Robert Nakayama		
研究課題(日本語)						
腫瘍抑制遺伝子 SMARCB1 による遺伝子発現調節機構に関する研究						
研究課題(英訳)						
Coordinated gene expression regulation by tumor suppressor SMARCB1						
1. 研究成果実績の概要						
<p>腫瘍抑制遺伝子 SMARCB1 を欠損した異常な SWI/SNF 複合体による遺伝子発現制御の仕組みを解析するため、SMARCB1 欠損がん細胞株に SMARCB1 を強制発現させて、増殖能の変化、RNA-seq 法を用いて遺伝子発現の変化、ChIP-seq 法を用いて SWI/SNF 複合体や各ヒストンマークのゲノム上の結合部位や占拠率の変化を解析した。</p> <p>多くの SMARCB1 欠損細胞株で SMARCB1 の強制発現により細胞増殖が著しく抑制された。SWI/SNF 複合体のサブユニットには DNA 結合部位、ヒストン結合部位が存在するため、塩化ナトリウムによる Differential salt extraction 法を用いて SWI/SNF 複合体のクロマチンとの相互作用を解析したところ、SMARCB1 欠損複合体は SMARCB1 を含んだ複合体と比較して、低濃度の塩化ナトリウムでクロマチンと解離した。SWI/SNF 複合体の主要なサブユニットに対する抗体を用いた ChIP-seq 法では、解析したすべての細胞株において SMARCB1 の強制発現により SWI/SNF 複合体のゲノム上の占有率が有意に増加した。以上の結果より、SMARCB1 の欠損は SWI/SNF 複合体のクロマチンとの相互作用を不安定化させ、SWI/SNF 複合体のゲノム上の占拠率を低下させることで、遺伝子発現調節の異常をもたらしていることが示唆された。</p>						
2. 研究成果実績の概要(英訳)						
<p>In order to elucidate the underlying mechanism and to identify direct genetic targets of SMARCB1-deficient aberrant SWI/SNF complexes, we comprehensively evaluated the effects of SMARCB1 reintroduction in SMARCB1-deficient cancer cell lines at the levels of proliferation, global transcriptional signature (RNA-seq), and genome-wide localization (ChIP-seq). Reintroduced SMARCB1 significantly suppressed the proliferation of nearly all SMARCB1-deficient cancer cell lines. As SWI/SNF chromatin remodeling complexes contain several DNA and histone-binding domains, we sought to determine whether SMARCB1 loss alters the stability of BAF complexes on chromatin. We used NaCl-based differential salt extraction to determine the relative affinity of BAF complex proteins on chromatin in cells in either empty or SMARCB1 conditions. We found that SMARCB1-deficient complexes in SMARCB1-deficient cancer cells dissociate from chromatin at the low NaCl concentrations, whereas subunits dissociate from chromatin at the high NaCl treatment upon SMARCB1 reintroduction. Results were similar in comparing SWI/SNF complex chromatin affinity in wild-type and SMARCB1Δ/Δ HEK293T cells. To examine the effect of SMARCB1 rescue on SWI/SNF complex targeting and gene regulation, we performed chromatin IP of SWI/SNF complexes followed by sequencing (ChIP-seq) using antibodies to core SWI/SNF complex subunits. We observed a gain of genome-wide SWI/SNF complex occupancy upon rescue of SMARCB1 in SMARCB1-deficient cell lines. These results indicate that the primary biophysical consequence of SMARCB1 loss is decreased affinity of SWI/SNF complexes for chromatin, suggesting alterations in their genome-wide chromatin occupancy and regulatory capacity.</p>						
3. 本研究課題に関する発表						
発表者氏名 (著者・講演者)	発表課題名 (著書名・演題)	発表学術誌名 (著書発行所・講演学会)	学術誌発行年月 (著書発行年月・講演年月)			
中山ロバート	SMARCB1(BAF47)欠損腫瘍における発がん性 SWI/SNF(BAF)複合体のプロテオーム解析	第 76 回 日本癌学会	2017 年 9 月			
Nakayama Robert T Pulice John L Valencia Alfredo M McBride Matthew J McKenzie Zachary M Gillespie Mark A Ku Wai Lim Teng Mingxiang Cui Kairong Williams Robert T Cassel Seth H Qing He Widmer Christian J Demetri George D Irizarry Rafael A Zhao Keiji Ranish Jeffrey A Kadoch Cigall	SMARCB1 is required for widespread BAF complex mediated activation of enhancers and bivalent promoters	Nature Genetics	2017 年 11 月			