



文部科学省科学研究費補助金 新学術領域研究  
「遺伝子制御の基盤となるクロマチンポテンシャル」 2018年度-2022年度  
HP: <https://www.nibb.ac.jp/potentia>  
Twitter: [https://twitter.com/CP\\_Publicity](https://twitter.com/CP_Publicity)

# クロマチン潜在能

## News Letter No.11 Aug, 2020

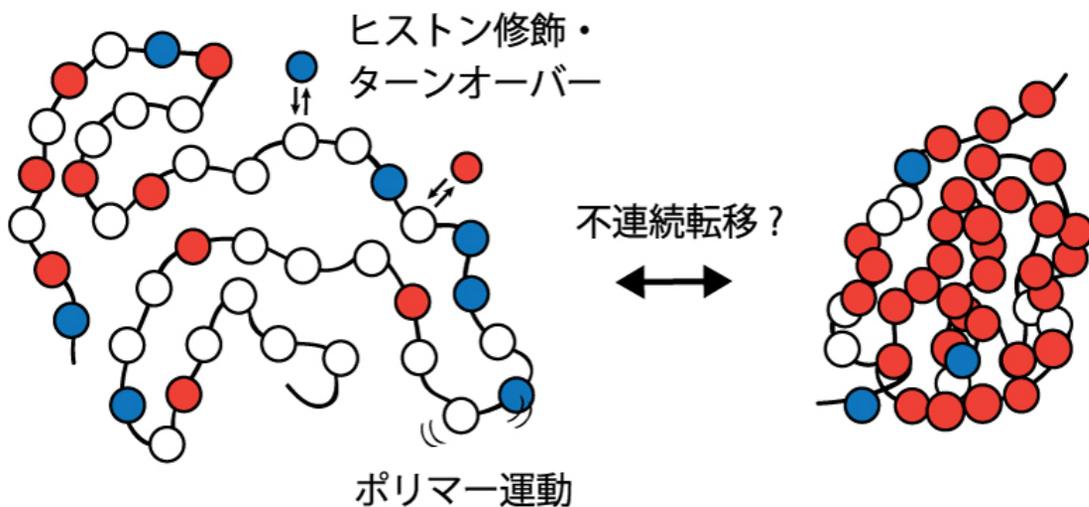
1. 公募研究紹介 (川口 喬吾・正井 久雄・新海 陽一)
2. 成果紹介
3. その他
4. 今後の予定

# 1. 公募研究紹介

## 『クロマチン構造転移の統計物理学』

研究代表者：川口喬吾（理化学研究所・開拓研究本部・チームリーダー）

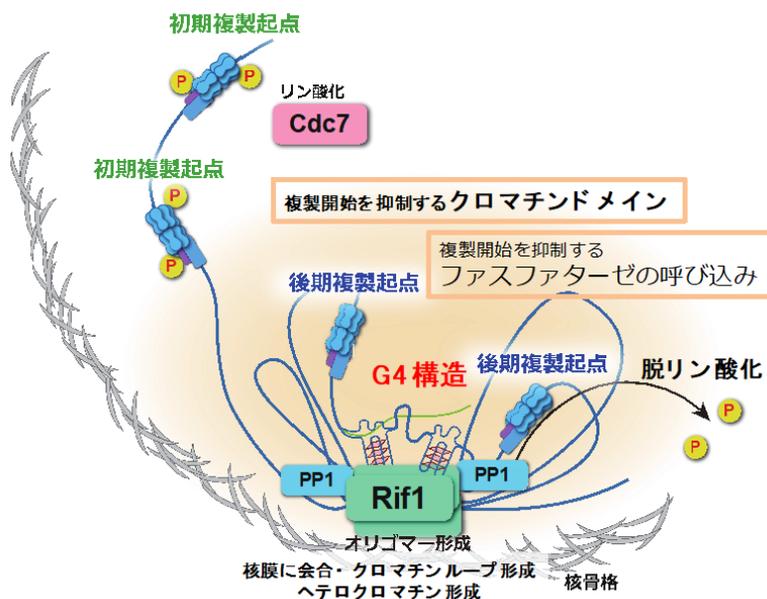
多細胞生物が持つ多様な細胞種は、それぞれが特殊な状態をとびとびに占有しており、その多くは一度分化して別の細胞種に変化すると元の細胞種には戻りません。細胞分化現象のこうした離散性や不可逆性といった特徴は生物種を超えて普遍的に観察されていますが、その物理的要因はいまだ謎にまつまれています。一方で、分化過程においては遺伝子発現パターンの変化だけでなく細胞核内のクロマチンの構造も大きく変化していることがはっきりしてきました。そこで本研究では、クロマチンの構造変化の物理的性質そのものが、細胞分化現象の離散性・不可逆性と密接関わっている可能性を検証すべく、統計物理学によるモデル研究と、データ解析の両面から研究を進めていきます。具体的には、まずクロマチンにおける A/B コンパートメントの変化が離散的でロバストな on/off スイッチとして機能するために必要な要素や過程を、理論モデルとシミュレーションにより調べます。並行して、細胞分化過程のエピジェネティクスデータからクロマチン構造変化のルールを抽出し、その物理的意味の考察から出発して、予言力のある理論を構築することを目指します。



## 『グアニン4重鎖を介して核膜近傍に形成されるクロマチンドメインによる染色体動態制御』

研究代表者：正井久雄（公益財団法人 東京都医学総合研究所・所長）

クロマチン潜在能を解明する上で、ゲノムに記された情報をもれなく理解することは基本的に重要です。ゲノムが内包する2大情報である一次構造、エピゲノム情報に加えて、本研究では、核酸が形成する特殊な形態に着目します。特にグアニン4重鎖構造(G4)が指令するクロマチンの未知の潜在能を明らかにします。私たちはこれまでに、進化的に保存された核因子Rif1は、DNA複製の時空間制御(特定のゲノム領域の複製が核内のどこで、いつ起こるか)の制御に重要な役割をはたすことを見出してきました。さらに、Rif1は代表的な非B型DNA構造であるG4を認識しクロマチンに結合し核膜近傍に複製に抑制的なクロマチンドメインを形成することを見出しました(図参照)。Rif1はDSB修復や転写制御にも重要な役割を果たすことが知られています。本研究では、Rif1がG4結合を介してどのようなメカニズムで核膜近傍に特有なクロマチンドメインを形成し、それにより複製、修復、転写がどのように制御されるかを解明します。さらに、G4のクロマチン潜在能における役割をより網羅的に解析するため、細胞内クロマチン上のG4形成部位と、その核内でのダイナミックな動態を解析する新技術を開発し、明らかにしたいと考えています。

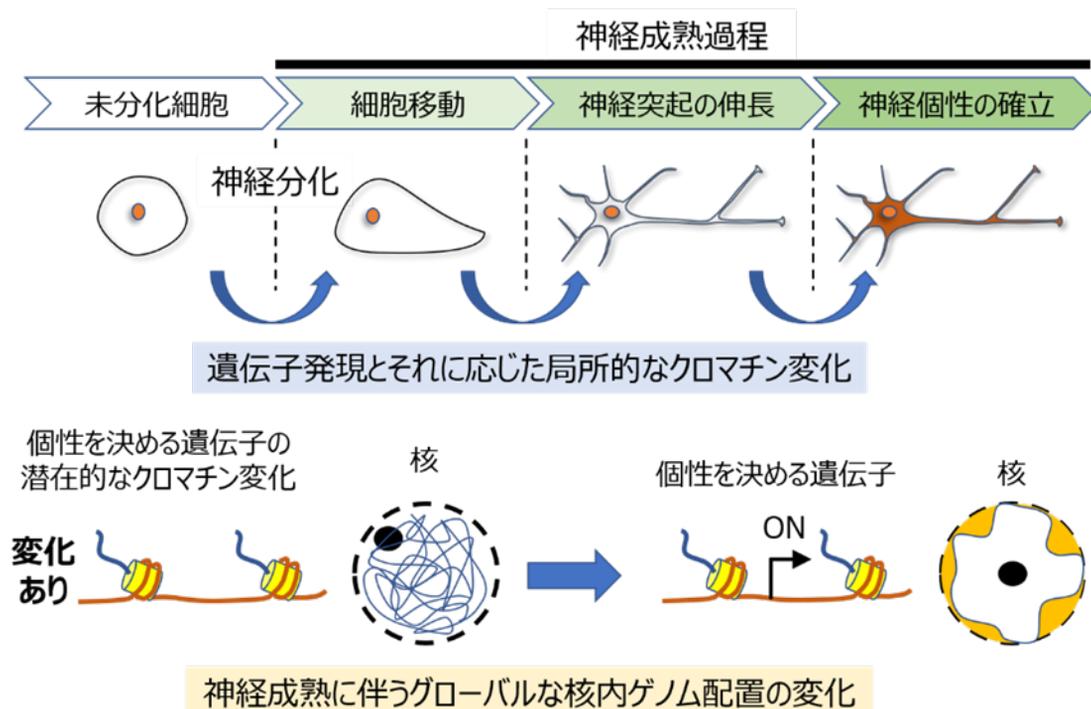


Rif1は 遺伝子間領域に存在する G4構造に結合し、クロマチンを束ねるとともに、核膜近傍に複製タイミングを制御するドメインを形成する。

# 『神経個性を決める潜在的クロマチン変化の意義とその制御機構の解明』

研究代表者：新海陽一（産業技術総合研究所・バイオメディカル研究部門・  
脳遺伝子研究グループ・主任研究員）

私たちの脳をはじめとする神経系は、様々な個性を持つ神経細胞から構成されています。こうした多様な個性は、分化直後の未熟な神経細胞の「細胞移動⇒神経突起の伸長⇒機能的な個性の確立」という共通した成熟過程を経て獲得されます。未熟な神経細胞がこれらの過程を完遂する為に、その都度、関連する遺伝子群のダイナミックな発現変化とそれを裏打ちするエピゲノム情報の書き換えが行われることがわかっています。私たちは、線虫*C. elegans*のHSN神経細胞において、その個性が確立されるずっと前から、すでに個性を決める潜在的なクロマチン変化が局所的に誘導されていることを明らかにしてきました。しかしながら、「なぜ非常に早い段階からあらかじめ局所的なクロマチン変化を起こしておく必要があるのか」について、その理由はわかりません。一方で、よりグローバルな核内動態に視点を移すと、HSN神経細胞において、神経成熟に伴って核内ゲノムの3次元配置が大きく変化します。本研究では、こうしたグローバルな変化が局所的かつ潜在的な変化に基づいて誘導されるという仮説のもとに、局所的に行われる潜在的クロマチン変化のタイミングや不可逆性、核内ゲノム配置を制御する分子群を探索します。こうした解析から、神経成熟過程における局所的なクロマチン変化とグローバルなゲノムの高次構造とを繋ぐ分子基盤を明らかにします。



## 2. 成果紹介

■ 平野泰弘(阪大・助教)と平岡泰計画研究代表、原口徳子計画研究分担らの論文が Communications Biology誌に掲載されました。本研究は領域内共同研究の成果です。

### Lem2 and Lnp1 maintain the membrane boundary between the nuclear envelope and endoplasmic reticulum

†\*Hirano Y, Kinugasa Y, Osakada H, Shindo T, Kubota Y, Shibata S, Haraguchi T, \*Hiraoka Y. Commun Biol. 2020 Jun 1. doi: 10.1038/s42003-020-0999-9

<https://www.nature.com/articles/s42003-020-0999-9>

本論文は、クロマチン潜在能に重要な細胞核構造として核膜に着目し、核膜と小胞体の境界を維持するのに、核膜タンパク質Lem2と小胞体タンパク質Lnp1の両者が協調的に働くことが必要であることを明らかにしたものである。

核膜は、内膜と外膜の2枚の膜から成る。内膜には、核膜特異的なタンパク質が存在し、直接間接的にクロマチンと相互作用することで、クロマチン機能に重要な影響を及ぼす。一方、外膜は、小胞体膜と連続的につながっているが、小胞体膜とは区別された膜構造として存在している。しかし、この境界がどのように形成・維持されているか、これまで不明であった。我々は、分裂酵母

(*Schizosaccharomyces pombe*) の核膜タンパク質 (Lem2, Man1, Bqt4など) の機能を解析し、Lem2と小胞体タンパク質Lnp1が協調して働くことが、核膜と小胞体膜との境界形成に重要であることを発見した。Lem2とLnp1の両方が欠失している細胞では、野生型細胞や片方のタンパク質欠失細胞では見られない様々な核構造の異常が起こった。核膜・小胞体膜が異常に増大し、核タンパク質が細胞質へ異常に漏出、また通常は細胞質にのみ見られる液胞状構造が核内に形成されたのである

(図)。これらの異常は、核膜と小胞体膜の境が消失し、核と細胞質の区別が付かなくなったことを示していた。そして、この結果、細胞は増殖不全となった。さらに、Lem2とLnp1の欠失による異常は、小胞体膜タンパク質Apq12の過剰発現によって回復することが分かった。遺伝解析の結果、Apq12はLnp1の機能を相補することが明らかとなった。これらの解析から、Lem2とLnp1が核膜の

境界を維持するための重要な要素として機能することが明らかとなった。さらに、これらのタンパク質を中心とした「膜タンパク質ネットワーク」が存在することが明らかとなった。

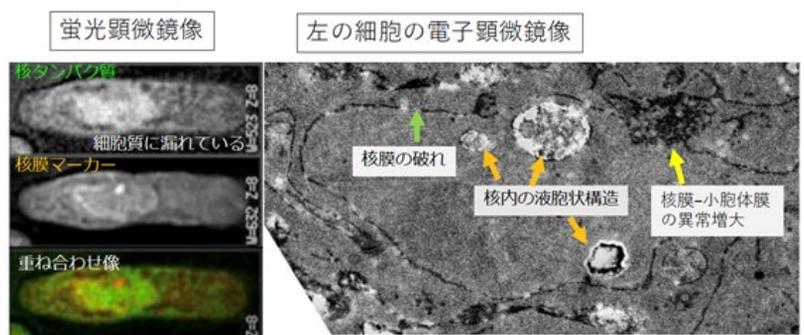


図. Lem2とLnp1の欠失による核膜構造の異常

■平岡陽花(阪大・大学院生)と平岡泰計画研究代表、原口徳子計画研究分担らの論文が Genes to Cells誌に掲載されました。本研究は、領域内共同研究の成果です。

## Intracellular ATP levels influence cell fates in *Dictyostelium discoideum* differentiation

† \*Hiraoka H, Nakano T, Kuwana S, Fukuzawa M, Hirano Y, Ueda M, Haraguchi T,

\*Hiraoka Y

Genes Cells. 2020 Mar 13. doi: 10.1111/gtc.12763

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7318147/>

本論文は、細胞内のATPレベルが、細胞分化の運命を決定する因子のひとつであることを明らかにしたものである。

多細胞生物は、様々な役割を持つ複数の分化細胞から構成されている。未分化細胞が、将来、どの細胞に分化するか、その分化運命を決定づける要因については、未だ不明なことが多い。それを知るために、モデル生物として、細胞性粘菌 *Dictyostelium discoideum* を用いた。理由は、(1) 培地を取り除きリン酸緩衝液で置換するだけで分化誘導が可能なこと、(2) 分化細胞の種類として、柄細胞と孢子細胞の2種類しかないこと(図1)、

(3) 栄養増殖の段階で細胞の分化運命が予測可能であること、の3つが挙げられる。(3)に関しては、栄養増殖の段階で、*omt12* 遺伝子の発現が高い細胞は柄細胞に、低い細胞は孢子細胞に分化することが示されている。ただし、*omt12* は単なるマーカー遺伝子であり、その発現レベルの変化は細胞の運命に影響を与えず、分化運命の決定要因は不明のままだった。本研究では、*omt12* 遺伝子の高い細胞(のちに柄細胞に分化する予定柄細胞)と低い細胞(のちに孢子に分化する予定孢子細胞)をそれぞれ分取し、それぞれの画分で発現している遺伝子群を、

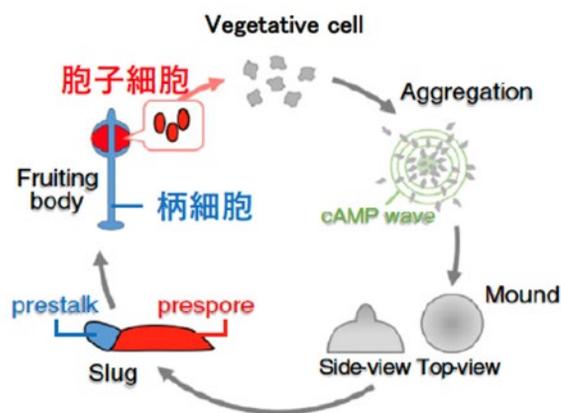
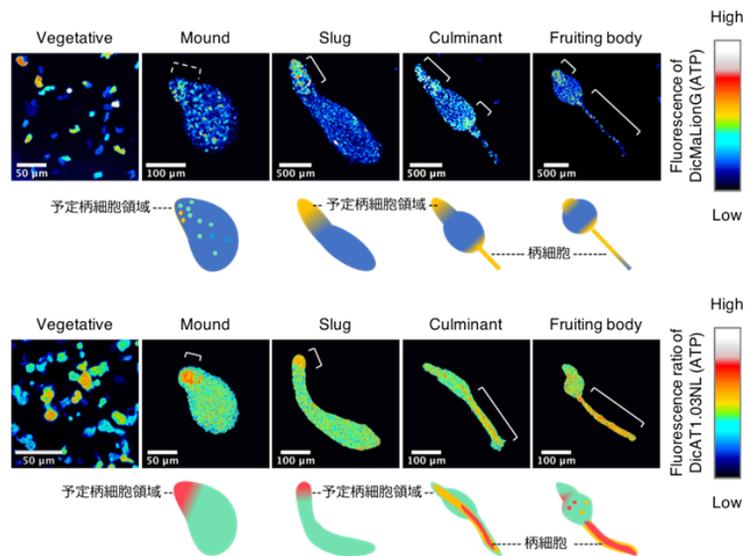


図1. 細胞性粘菌の生活環。飢餓になると細胞集合して、孢子細胞と柄細胞に分化する。

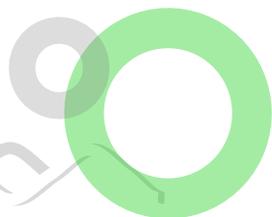
RNA-seq法を用いて調べた。その結果、*omt12* 発現の高い予定柄細胞では、低い予定孢子細胞に比べて、「解糖系」の遺伝子および「TCAサイクル」に関係する遺伝子の発現がそれぞれ僅かずつ亢進していた。そこで、この両方に共通する因子としてATPに着目し、細胞を破碎して、細胞内のATPの量を測定した。その結果、予定柄細胞では、予定孢子細胞に比べて、細胞内ATPの量が多いことが分かった。次に、栄養増殖期にATPレベルが高い細胞が、本当に柄細胞に分化するのか、生きた細胞で観察した。ATPセンサープローブでATPを染色した細胞を観察したところ、ATPレベルが高い細胞が柄細胞に分化することが明らかになった(図2)。

さらに、増殖期にATPレベルが高かった細胞を、異なる作用機序をもつ2種類のATP産生阻害剤のそれぞれで処理して分化誘導したところ、どちらの阻害剤でも、柄細胞への分化が起こらず、孢子細胞へと分化することが分かった。これらの結果は、ATPレベルの高低が分化運命に大きく影響することを示している。これらの結果から、細胞性粘菌では、分化開始前から、将来の分化運命が決定されており、その分化運命を決定する因子のひとつは、ATP濃度であると結論した。本領域は、クロマチン構造がもつ潜在的な遺伝子制御能力を「クロマチン潜在能」と捉え、ク

ロマチン潜在能の分子実体と、その潜在能に影響を与える環境要因を明らかにするものである。本研究は、ATPレベルがクロマチン潜在能に影響を与える環境要因のひとつであることを示唆している。また、細胞分化能を左右する因子として、これまで、代謝や解糖系、TACサイクルなどの重要性が議論されてきたが、それらの共通因子として、ATPレベルの重要性を主張するものである。



**図2. ATP センサープローブによる分化過程の可視化。上は DicMaLionG、下は DicAT1.03NL。柄細胞に分化する移動体前方の細胞で、ATP レベルが高いのが分かる。**



■山縣一夫計画研究代表の論文が、Scientific Reports 誌に掲載されました。

## Chromosome segregation error during early cleavage in mouse pre-implantation embryo does not necessarily cause developmental failure after blastocyst stage

†Mashiko D, †Ikeda Z, Yao T, Tokoro M, Fukunaga N, Asada Y, \*Yamagata K

Sci Rep. 2020 Jan 21. doi:10.1038/s41598-020-57817-x

<https://www.nature.com/articles/s41598-020-57817-x>

受精卵が染色体分配に失敗すると、染色体数の異常を引き起こし不妊につながると考えられている。ヒト受精卵のおよそ7割は染色体数が異常な細胞と正常な細胞が混じったモザイク状態であることが知られている。異常な細胞がどれだけ含まれているのかを間接的に知るために、受精卵から細胞を一部回収し、DNA抽出あるいは染色などにより染色体が調べられているが、回収した細胞が全体を反映しているのか不明であるため、染色体分配の異常と発生および出生の関係を直接評価することはできなかった。本論文ではマウス受精卵を用いて、特に重要だと考えられてきた受精直後の染色体分配をライブセルイメージングにより直接観察し、その後移植することで染色体分配異常が生じたタイミング、異常の程度によってその後の発生や出生に違いが生じるのかを調べた。

マウス受精卵にH2B-mCherry mRNAを注入し、スピニングディスク式共焦点レーザー顕微鏡で、受精から胚盤胞期まで4日間連続観察し、その後1つの胚を1つの偽妊娠マウスに移植を行った。動画を解析したところ、受精直後から8細胞期までに染色体分配異常がみられた受精卵の半数は胚盤胞期まで到達せず、一方、正常な分配を示した受精卵ではほぼすべてが胚盤胞期に到達することがわかった。次に胚盤胞期まで到達した受精卵の移植結果を初期染色体分配と紐づけて調べたところ、異常を起こした受精卵からも、正常な受精卵からも、同じ割合で子が得られることがわかった。興味深いことに、第一分裂で異常を起こした受精卵からさえも子が得られた(図)。はじめの染色体分配に失敗し、その細胞が増えれば50~100%の細胞が異常を示すはずだが、次世代シーケンサーを用いて第一分裂で異常を示した胚盤胞のすべての細胞の染色体を調べたところ、50%の細胞が異常な胚盤胞、15%の細胞が異常な胚盤胞が観察された。産まれた子は染色体数が異常な細胞の割合が予想よりも小さい胚に由来することを考えると、胚盤胞までの発生過程において異常な細胞が除去されることを示唆する。

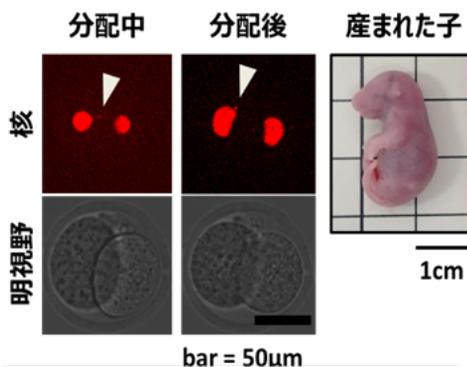


図 受精後、はじめの染色体分配で異常をおこした胚からも子が得られた

本研究により、受精直後の染色体分配異常は胚盤胞期までの発生に影響することがわかった。この結果は生殖医療の現場において受精卵を胚盤胞まで生育させることの重要性を示している。現在の染色体検査方法は細胞回収の際の損傷により妊娠率が低下することが報告されている。今後、本技術を応用して、すべての細胞の染色体分配を観察し予後を追跡するような、細胞の回収を必要としない染色体検査法が開発されることが期待される。

### 3. その他

■月刊誌「細胞」2020年5月臨時増刊号（ニューサイエンス社）に、本領域の研究を中心とした特集が組まれました。

「細胞」2020年5月臨時増刊号

遺伝子制御の基盤となる細胞核・クロマチン構造

Basic principle of gene expression governed by chromatin and nuclear structure

特集

- ・ 総論 クロマチン・細胞核レベルでの遺伝子発現制御（木村 宏）
- ・ 転写におけるクロマチン構造研究（鯨井 智也・胡桃坂 仁志）
- ・ 受精卵における人工細胞核構築（山縣 一夫・原口 徳子 他）
- ・ 空間オミクス実現に向けたエピゲノム解析技術（小松 哲郎・大川 恭行）
- ・ Hi-C法による核内ゲノム高次構造ダイナミクス研究の幕開け（平谷 伊智朗）
- ・ 非コードRNAによる遺伝子発現制御（市川 雄一・斉藤 典子 他）
- ・ 高分子物理学で読み解くクロマチンダイナミクス（坂上 貴洋・木村 暁 他）

リンクサイト：<https://www.fujisan.co.jp/product/982/b/1961026/>



### 4. 今後の予定

#### ■第93回 日本生化学会年会

コロナウィルスの影響により、オンラインによる開催となりました。

日 時： 2020年9月14日(月)-16日(水)

会 頭： 深見 希代子（東京薬科大学）

homepage：<https://www2.aeplan.co.jp/jbs2020/>

#### 当領域共催シンポジウム

3S02a「クロマチンポテンシャルの階層縦断的研究」

日 時： 9月16日（水）14:00-16:00

オーガナイザー： 胡桃坂 仁志（東大）、木村 宏（東工大）



## 当領域研究者によるシンポジウム

2S07a「核内因子ネットワークによる遺伝子制御機構」

日 時： 9月15日 (火) 14:50-16:50

オーガナイザー： 立和名 博昭 (がん研)、佐藤 優子 (東工大)

2S07e「ゲノム反応中間体としての非B型核酸:その構造と生物学的意義」

日 時： 9月15日 (火) 17:00-19:00

オーガナイザー： 川上 広宣 (山口東京理科大)、正井 久雄 (東京都医学総合研究所)

## ■第43回 日本分子生物学会年会

コロナウィルスの影響により、オンラインによる開催となりました。

日 時： 2020年12月2日(水)-4日(金)

年会長： 上村 匡 (京都大学)

演題登録受付締切： 9月15日(火) 17:00

事前参加登録締切： 10月30日(金) 17:00

homepage： <https://www2.aeplan.co.jp/mbsj2020/>

## 当領域共催ワークショップ

「1細胞解析から紐解くクロマチンポテンシャル」

日 時： 12月2日 (水) PM

オーガナイザー： 平谷 伊智朗 (理研)、落合 博 (広大)

## 当領域研究者によるワークショップ

「機能性RNAによる核と染色体のダイナミクス制御」

日 時： 12月2日 (水) AM

オーガナイザー： 斉藤 典子 (がん研)、岩崎 由香 (慶応大)

「植物と動物の発生における非対称性創出の基盤原理の理解にむけて」

日 時： 12月3日 (木) AM

オーガナイザー： 佐藤 豊 (遺伝研)、木村 暁 (遺伝研)

「女性研究者の活躍がクロマチンのように生物学の最前線に広がることを目指して」

日 時： 12月3日 (木) PM

オーガナイザー： 加納 純子 (東大)、岡田 由紀 (東大)





「柔らかい生体分子の生物学」

日 時： 12月4日（金）AM

オーガナイザー： 山崎 智弘（北大）、中川 真一（北大）

「今後の分子生物学で神経科学の何を明らかにするのか？」

日 時： 12月4日（金）PM

オーガナイザー： 岸 雄介（東大）、竹内 春樹（東大）

「細胞核を造る～再構成的アプローチによる細胞核の階層性理解～」

日 時： 12月4日（金）PM

オーガナイザー： 胡桃坂 仁志（東大）、山縣 一夫（近大）

**編集後記**：私の周りでは、研究室スタッフや友人にお子さんが生まれる嬉しいニュースが続いています。感染症はおさまりませんが、めげることなく新しい芽がはぐくまれていることに感動します。本領域でも研究成果が続々と寄せられ、尊敬します。(NS)  
長い梅雨があったのも忘れるほど、連日の猛暑ですね。今年一年は、なにかと忍耐の一年になりそうです。(TF)

