



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度-2022年度

HP: <https://www.nibb.ac.jp/potential>

Twitter: https://twitter.com/CP_Publicity

クロマチン潜在能

News Letter No.19 Oct, 2022

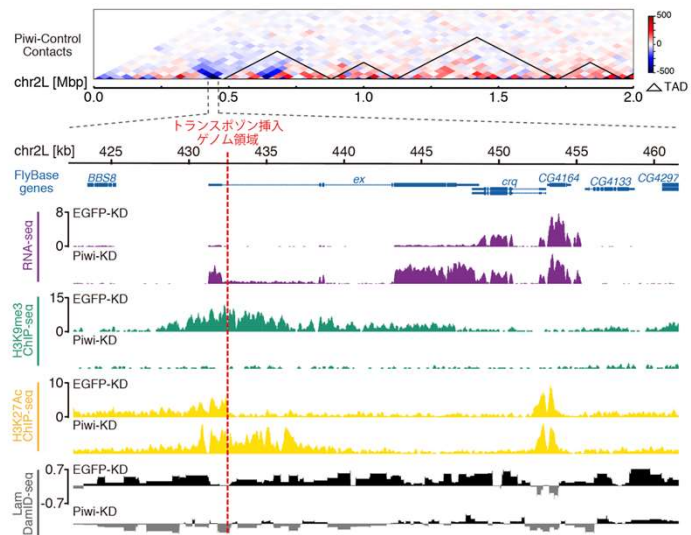
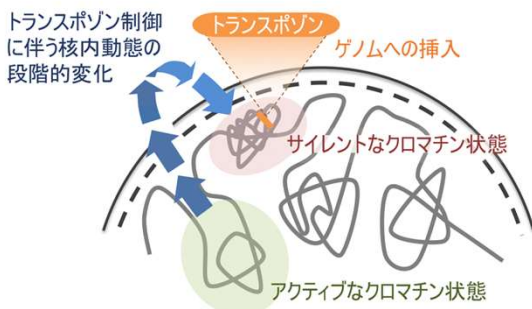
1. 公募研究紹介 (岩崎 由香・佐藤 政充・毛利 一成)
2. ワークショップレポート
3. ミーティングレポート
4. 領域内サイトビジット
5. 成果紹介
6. 今後の予定

1. 公募研究紹介

『トランスポゾンが形作るヘテロクロマチン領域とゲノム構造』

研究代表者：岩崎 由香（慶應義塾大学・医学部・准教授）

真核生物のゲノムの膨大な領域は、ゲノム上の位置を転移することができるトランスポゾンに占められています。そして、例えばヒトにおいてはゲノムの約半分もの割合を占めるトランスポゾンにどのような意味があるかについては、未だに明らかになっていない部分が多いのが現状です。本研究では、トランスポゾンの発現を抑制するシステムに着目し、特に、これがゲノムワイドなクロマチン状態や遺伝子発現に与える影響の理解を目指します。これまでに、小分子RNAによるトランスポゾンの発現制御を解析した結果、この機構が、トランスポゾンとその周辺ゲノム領域のクロマチン凝集および核ラミナ相互作用ドメインやゲノム三次元構造の変動を伴うダイナミックな核内構造の変化によることを見出しました（下図）。これらの研究成果から、トランスポゾンは「制御されること自体」を通じて、ヘテロクロマチンを規定する「ゲノム上のドメイン領域として」の機能を持つのではないかと考えています。トランスポゾンを起点として引き起こされるクロマチン状態の変化がどのように周辺ゲノム領域や長距離間相互作用の関係にあるゲノム領域に広がり、ゲノムワイドな遺伝子発現パターンに影響を及ぼすか、明らかにします。

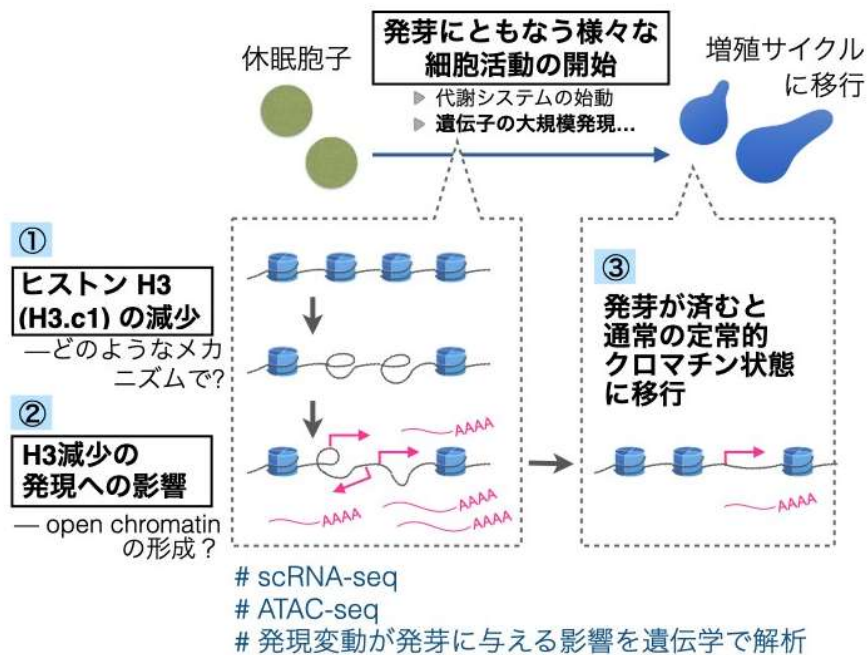


『細胞の目覚めを引き起こす遺伝子制御の基盤となるクロマチンの時間的変化』

研究代表者：佐藤 政充（早稲田大学・理工学術院・教授）

休眠状態にある細胞が「目覚め」て分裂を始めるときに、どのようなシステムが働くのか。モデル系として分裂酵母の休眠孢子とその発芽に着目し、休眠打破のメカニズムを追究しています。孢子は栄養源がない状態で長期の休眠が可能であり、また周囲の栄養環境が改善するとこれを認識して発芽（休眠打破）する。従来の遺伝学的解析により、栄養認識経路の休眠打破への関連性はいくつか知見が得られていますが、それらが細胞の始動に繋がる経緯は不明でした。

そこで私たちは発芽孢子をシングルセルとして単離して、シングルセルRNA-seq解析とinformatics解析を通して、発芽の過程で遺伝子発現プロファイルが時間的にどのように変化するかを推測しました。ここで私たちはヒストンH3の遺伝子が有意に発現変動することを見いだしました。分裂酵母は3つのヒストンH3遺伝子を有しますが、そのうちの1つ（H3.c1）は、休眠孢子ではmRNAが検出されたものの、発芽開始とともにそのmRNA量は減少し、さらに発芽の後期段階になって増加しました。このH3.c1の時間変動は、発芽時にはヒストンの量を調節することで一時的にクロマチン状態をopenにして、ゲノム規模での遺伝子発現を推進するシステムが潜在する可能性を示唆しています。すなわち、どのようにH3.c1は減少するのか、また、どのようにH3.c1の減少が遺伝子発現に繋がるのか。本研究ではこれらの問いを通して、クロマチン潜在能を引き出す分子機構を明らかにします。



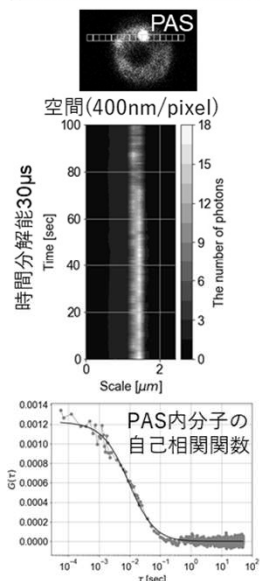
『3次元STED-FCSで明かすクロマチン潜在能を支える核内微小構造の分子動態』

研究代表者：毛利 一成（情報通信研究機構・未来ICT研究所・研究員）

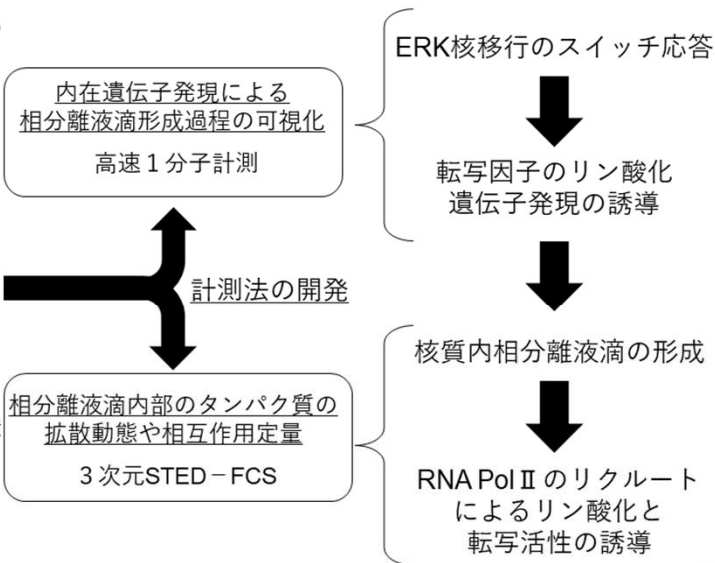
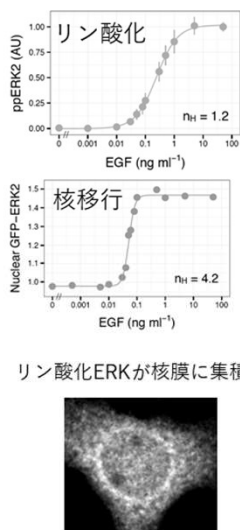
核質内に存在する細胞膜が存在しない微小器官は古くから知られていますが、その大きさは光学限界である300nmと同程度です。共焦点顕微鏡の観察ではz方向の分解能は μm オーダーとなるため、核内微小構造内の分子動態の観察は困難でした。近年、転写活性の場やヘテロクロマチンも相分離により形成される可能性が示唆されてきましたが、上記の通りそのサイズは光学限界より小さく、分子同士の強い結合により架橋された構造物か、弱い結合により流動性が維持された相分離液滴か区別できませんでした。我々は自ら開発したFCS手法により、オートファジーの前駆体であるPASが相分離により形成される液滴であることを示しましたが(図A)、液滴内外の分子の行き来を含む動態までしか推定できませんでした。上記FCS法に3次元STED顕微鏡を組み合わせることで、XYZ $\sim 100\text{nm}$ の検出領域内の分子拡散の定量化法確立や、全反射顕微鏡による1分子動態計測法の確立を目指します。これまでに細胞の増殖因子刺激後応答のデータを数理モデル解析し、細胞運命決定の確率性が秩序化されることを示し、この原因にシグナル伝達上流のリン酸化に対し、ERKの核膜孔通過が情報伝達のスイッチとなることが示唆されました(図B)。実際に全反射顕微鏡(TIRF)により生細胞の核膜孔でERKの1分子計測を行い、100ms程度核膜孔に滞在する様子が明らかとなっています。このようなシグナル伝達によるクロマチンの相分離液滴形成能を検証することを目指します。

細胞局所で起こる生命現象解明のためのFCS開発

(A) FCS法を新規開発し酵母のオートファゴソーム微小領域内の分子拡散を定量



(B) ERKリン酸化後の核移行で協同性が生じる



2. ワークショップレポート

■第33回 細胞生物学ワークショップ 蛍光顕微鏡トレーニングコース

本ワークショップ（WS）は、バイオイメージング技術習得を目的とした「蛍光顕微鏡の実機講習会」です。第33回となる今回は、2022年8月1日（月）～8月5日（金）の日程で、オンサイトとオンラインを組み合わせた形式で開催しました。開催場所は、大阪大学生命機能研究科です。受講生として、全国の大学院生や若手研究者など47名（うち、オンサイト12名+オンサイト35人）が参加しました。本領域からは、講師・ディスカッションリーダーとして、伊藤由馬（木村計画研究分担）がオンサイト参加した他、木村宏（領域代表）、山縣一夫（計画研究代表者）がオンライン参加しました。受講生として、本領域計画研究の研究室から、若手研究者3名が参加しました。

本WSは、3年前までは、1週間の合宿形式（全員泊まり込んで講義や実習を行う形式）でやってきました。

午前中は講義、午後は実習、夜はデータ解析や復習を行います。しかし、新型コロナウイルス感染が社会問題となってきた2年前（2020年）は、オンラインだけで開催し、去年（2021年）は、オンラインを中心に、オンサイトも少々という形で開催しました。今年は、希望が多かったオンサイトの受講生を多く受け入れつつ（6人×2グループ）、オンライン参加もできるように、3つの実習を並行して行いました。

図2は、オンラインでの実習風景。上は実習中の講師。左側前方に講師の手元を撮影しているカメラの担当者。下は、配信画面の切り替えを行っているオーディオビジュアルディレクター。実習している講師や、その手元、顕微鏡画面など、何台かのカメラで撮影し、必要に応じて画面を切り替えながら配信しました。後述するアンケートでは、「配信のクオリティーが高い」「手元がア

ップで見られて良かった」「カメラワークが見やすかった」という配信についての評価の他に、「平野先生の実習は、飽きさせないようにしつつ、実験の目的や作業の注意点を説明してくださったので、特に有意義でした」「北村先生は手順と同時にパラメータの解説をしてくださり大変分かり易かった」など、実習講師が行う実習についても高評価を頂きました。



図1. オンサイト参加者の集合写真（上）とオンライン参加者（下、一部）
：写真撮影の瞬間だけ、マスクを外しました。



図2. オンライン実習の様子

今年、特に力を入れていたのは、オンサイトでの実習です。去年と一昨年のアンケートでも受講生からの要望が大きく、オンサイトでの実習の実施が課題となっていました。実際、今年のオンサイト参加の希望者は20名を越えていましたが、スペースと機材の関係で12名まで選別しました。オンサイトでは、実機に触れながら実習ができることや、疑問点を直ぐに実習講師に質問できるのが魅力です。特に、「デジタル画像解析」の実習では、オンラインでは、一度、分からなくなると置いてきぼりとなってしまいますが、その場で、講師の指導を受けることができるので、そのようなdrop outが起こりません。図3に、オンサイトでの講義や実習の様子を示しました。全員が、講義や実習に熱心にかつ、楽しく）取り組んでいる様子が分かります。夕方は、8つのグループ（オンサイト2グループとオンライン6グループ）に分かれてdiscussionを行い、その日の復習をしました。

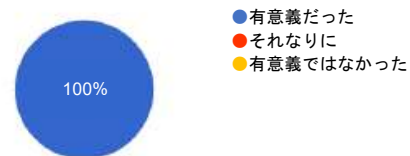


図3. オンサイトでの講義と実習の様子

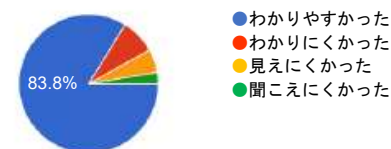
以下に、受講生のアンケート結果（37名からの回答）を紹介します（図4）。「このワークショップは有意義でしたか？」との質問に、全員が「有意義だった」と回答しました。「実習の内容はどうでしたか？」という質問には対しては、80%以上が「分かり易かった」と答えたものの、一部では「分かりにくかった」「見えにくかった」「聞こえにくかった」との回答もあり、まだ改善すべき点があることが分かりました。オンサイトの受講生に関しては、「実際に数多くの顕微鏡に触れる機会を設けていただいたので、とても力がついたと感じました」との意見を頂きました。また、夕方のdiscussionについても、95%が「有意義だった」と回答し、「よい復習になった」「少人数で話すことで仲間感が湧いた」などの意見と共に、「参加者への質問や小テストを出したら」などのご意見も頂きました。今年も、無事にWSを終えることができました。本WSに参加して下さった全ての皆さまに心より感謝します。

[文責：大阪大学・原口徳子]

3.このワークショップは有意義でしたか？
37件の回答




6. 実習の内容はどうでしたか？
37件の回答



8. 総合討論は理解の深化に役立ちましたか？
37件の回答



図4. アンケート結果



(後記：開催時期が、新型コロナウイルス感染の第7波が来ていた頃でしたので、色々な感染対策を行いました。マスク着用は元より、部屋の換気を積極的に行い、非接触体温測定装置と非接触アルコール消毒装置を配置しました。さらに、新型コロナウイルスの抗原を唾液で測定できるキットを配備し、いつでも、受講生や講師に自由に使って貰えるようにしました。受講生や講師など参加者全員の協力のお陰で、なんとか全日程を終えることができました。受講生や講師の皆さま、本当にありがとうございました。)

実習講師から頂いたご意見・感想

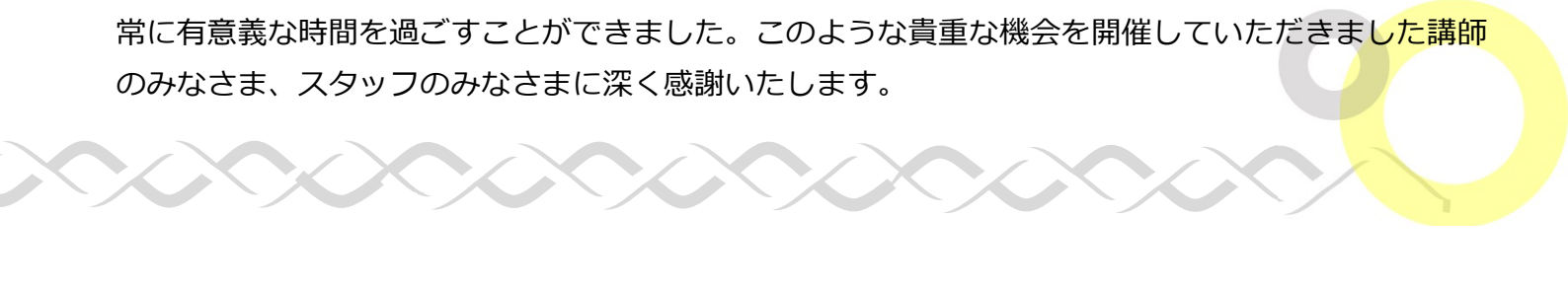
[東京工業大学 伊藤由馬]

ワークショップの実習講師として全日程に実地で参加し、顕微鏡観察の実践や、画像解析のサポート、グループディスカッションなどを担当しました。新型コロナウイルス感染症第7波の中での開催でしたが、参加者一人ひとりが消毒や検温などを頻繁におこない、全員が緊張感をもって取り組む様子が印象的でした。実地実習では受講生との対話や反応（非言語的な）を参考にでき、柔軟に撮影方法を変更できたので、蛍光観察の奥深さをダイレクトに伝えられたのではないかと思います。また、休憩時間などにも多くの質問や、研究に関する相談を頂き、それが居合わせた講師同士での議論に発展するなど、対面ならではの利点も実感を持って認識しました。オンサイトとオンラインのグループがローテーションを組んで、異なる顕微鏡で多様な撮影方法を学んだ結果、5日間の実習で撮影された蛍光画像が300 ギガバイトを優に超えたことは驚きでした。ライブ配信と感染対策を両立してワークショップを成功裏に開催されましたスタッフの皆様や、熱心な質問や議論で猛暑に負けない熱気ある講習会を作り上げて下さいました受講生の皆様に深く感謝いたします。

オンサイト受講生の感想

[近畿大学・山縣研 米澤直央]

私はオンサイトでワークショップに参加しました。コロナの第7波の中だったこともあり、講義室に入ると検温消毒機がお出迎えしてくれました。実習では顕微鏡の実機を使用し、講義で学んだことをすぐにアウトプットできる貴重な時間を過ごせました。特に、複数種類の対物レンズを使い分けて、それぞれの収差補正の違いを実感することができたことは感動しました。さらに、カバーガラスの厚さが温度によってかなり変化することを体感し、帰ってからはこれまで以上に温度に気を遣って実験を行なうようにしています。グループディスカッションでは、所属研究室ごとの顕微鏡で改善したいことを話す機会があり、常に解決案と最適な観察方法を考えることが重要だと教わりました。講義中には何がわからないかわからなかったこともありましたが、実習を通していくつも理解できたので非常に有意義な時間を過ごすことができました。このような貴重な機会を開催していただきました講師のみなさま、スタッフのみなさまに深く感謝いたします。



オンライン受講生の感想

[近畿大学 平井樹]

私は本ワークショップにはオンラインで参加しました。講義してから実習という形態で行われていましたが、オンラインでは実習には参加してもあまりわからないのかなと不安でした。ですが、配信画面がとても見やすく調整されており、顕微鏡の操作と画面が同時進行で確認できたため、どこを操作して何をしているのかが理解できました。特に、講義や実習でコメントがスクリーンに流れていく様は見ていて内容がわかりやすくおもしろかったです。講義で特に興味深かったのは、色収差によるズレとそのMerge画像でした。今までありのまま顕微鏡で得られた画像を見ていましたが、収差がずれているとその観察対象までずれて見えることに驚愕しました。今後蛍光観察する際は、今まで以上に顕微鏡の調整が適切かどうかを確認してから撮影したいと思います。実習後の総合討論では、少人数のグループに分かれたこともあり、意見や質問がしやすく、講義や実習の内容を再確認できたので有意義な時間を過ごすことができました。ワークショップを開催していただきました講師のみなさま、スタッフのみなさまに深く感謝を申し上げます。

3. ミーティングレポート

■Japan-UK Regulation through Chromatin Conference 2022 その1

2022年8月22日(月)～23日(火)に英国レスター大学でJapan-UK Regulation through Chromatin Conference 2022が開催されました。本カンファレンスは、レスター大学のThomas Schalch博士と、本領域の木村宏代表、計画研究とERATOの代表を務める胡桃坂さんが中心となり、COVID-19の影響で2回の延期のすえに、ようやくオンサイトで開催されました。本領域からは、私以外に木村さん、平谷さん、岩崎さん、前島さん、大川さん、岡田さんが、また英国からはSchalch



会場となった英国レスター大学
Institute for Structural and Chemical Biologyの
正面玄関前での集合写真 (Japan-UK Regulation through
Chromatin Conference 2022 HPより)

博士を加えて12名のクロマチンの研究者が講演者として参加しました。当初参加を予定していた、胡桃坂さん、斉藤さん、また大川研の藤井さんが諸事情で参加できなくなってしまったのは非常に残念でしたが、この規模でイギリスと日本のクロマチン研究者が集うような機会はなかなかなく、とても素晴らしいカンファレンスでした。

内容としては、主催者や開催研究所の分野を反映して、構造生物学的な話題が比較的多く、それに加えて、核内の3D構造、先端の解析技術、生細胞イメージング、ヘテロクロマチン、発生・分化を制御するクロマチン因子の話題など、クロマチンに関するディープな話題が盛りだくさんでした。また、分裂酵母のヘテロクロマチンを研究するAllshire博士、Schalch博士と久しぶりに再会して様々な研究の話ができたのはとても有意義でした。



Preconferenceの後のディナーの様子

COVID-19の影響で、海外の研究会に現地参加するのは3年ぶりになります。オンラインで研究会に参加するのに慣れてしまい、今回改めて海外の研究会に現地参加することのメリットや重要性を実感しました。例えば朝食やコーヒースタンド、懇親会などの時間が研究コミュニティにとっていかに大切かを実感しました。また、普段日本ではそこまで密に話をする機会が少ない国内の研究者とも多くの会話ができることを再認識しました。一方、オンラインでは味わえない手間や面倒もあります。例えば、航空券や宿泊先の手配、移動方法の確認、荷物の準備などに加えて、今はワクチン接種証明、帰国72時間前のPCR陰性証明などです。今回はスムーズに帰国できましたが、出入国規制にまつわる話は、岡田さんや平谷さんが分子生物学会の特設サイトに寄稿しているので、是非読んでいただきたいです。

最後に、本カンファレンスを開催するに当たり、主催者として尽力してくれた木村さん、胡桃坂さん、事務的な手続きをしてくれた胡桃坂研のダッシェ・マリコさん、木村研の秀島さんを始め関係者の皆様、またレスター大学のSchalch博士、Tennie Videler博士に深く感謝します。このカンファレンスをきっかけに、ますます日本とイギリスのクロマチン研究者の交流が盛んになり、研究の発展につながれば素晴らしいと思います。

(基礎生物学研究所・中山 潤一)

■Japan-UK Regulation through Chromatin Conference 2022 その2

新学術領域クロマチンポテンシャル（木村領域）とERATO（胡桃坂領域）、Biotechnology and Biological Sciences Research Council (BBSRC) との共催で、8月22-23日にイギリス・Leicester大学にて開催された上記カンファレンスに参加しました。本会は、本来2020年に開催予定でしたが、Covid-19の影響で2年延期されたものです。演者選出当時、私は木村領域の公募班員でしたが、領域を離れた現在も引き続き発表の機会を与えてくださった木村先生および領域の皆様、またコロナ禍のみならずウクライナ情勢や円高などの不安要素が多い状況で、日本人参加者のスムーズな渡航にご尽力くださった胡桃坂研究室のダッシェマリコさんに、厚く御礼申し上げます。



Leicester大学エリアから公園に続く道。第一次世界大戦の記念墓地らしい。

まる2日間に渡って開催された会には、イギリス側のオーガナイザーである Dr. Thomas Schalchが所属するLeicester大学をはじめ、イギリス各地の大学から多くの参加者がいました。構造から転写、ゲノム高次構造、発生など様々なトピックがありましたが、イギリス側からの演題はエピゲノム複合体の構造や機能解析に関するものが多い印象を受けました。中でも、HDACやNuRD、SWI/SNFなど、超有名だけれども日本では意外に研究人口が少ない複合体の最新の話を知ることができたのは非常に良い機会でした。古い話ですが2005年に、グラスゴーで開催されたBioScience2005という、日本でいうところの分子生物学会のような会に参加したことがあります。アメリカの留学先から参加した私は癌のセッションで発表し、他には初期発生や生殖工学（羊のドリー）の演題がありました。セッションなどもありましたが、複数ある会場で連日大盛況だったのは

リン酸化関係のセッションでした。当時ヒストンメチル化をやっていた身としては、「今頃リン酸化?!」と驚きましたが、アメリカとは対照的に流行に左右されずに自身の研究を長く続けていくのが英国スタイルなのだろうと、今回改めて感じました。

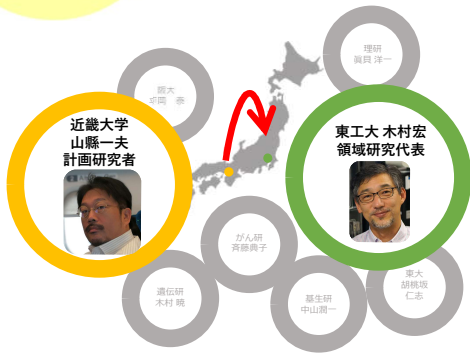
最後に、帰国72時間前PCRに纏わる話で締めくくります。同じ日に帰国する日本人5名で、会場からタクシーで10分ほどのところにある検査センターにPCRを受けに行きましたが、検査を終えて迎えにきたタクシーが、なぜか普通の5人乗り（客は4人まで）のセダン1台。運転手は案の定「ノープロブレム!」ということで、写真のような超過密状態に。。

(東京大学・岡田 由紀)



上) 後部座席に詰め込まれても余裕の笑顔の(奥から)平谷さん、前島さん、岩崎さん、岡田。
下) ひとり前に座って余裕の中山さん。

4. 領域内サイトビジット



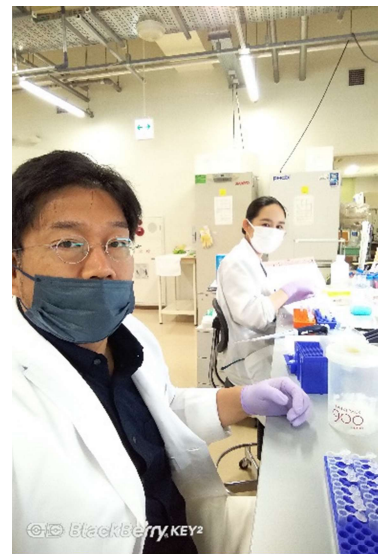
📖 技術講習

2022年8月15日から19日までの5日間、東京工業大学細胞制御工学研究センター（通称大隅センター）木村研究室に、実験のためお邪魔しました。ウシ受精卵などに使う新しいクロマチン結合蛍光プローブを作る目的で、約20年ぶりに大腸菌による組換えタンパク質の作製実験を行いました。意外にも実験の腕や感覚はさほど鈍っていませんでしたが、記憶力が驚くほど低下していて、1日前

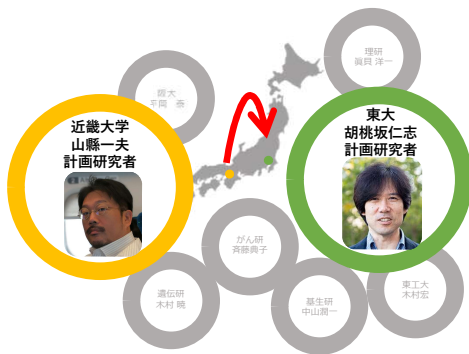


研究棟の1階に
たまたまおられた大隅
先生と

にやった実験でさえノートを見返さないと思いつけない始末でした。実験は研究員の小田春佳さんで行いました。というか、正直いうと小田さんの全面サポートが無ければ何もできませんでした。この場をお借りしてお礼申し上げます。それまでに前期の学務・教務は終わらせてきたので、滞在中は大学院生の頃のように朝から晩まで実験だけに集中できました。結果は一進一退を繰り返していますが、勘を取り戻したので、さっそく自分のラボに戻って試薬や装置を購入し、実験を継続しています。



小田さんと



📖 研究打ち合わせ

2022年9月12日、東京大学定量生命科学研究所の胡桃坂研究室を訪れました。現在進めている組換えタンパク質のデザインについて議論を行い、多くのサジェッションをいただき

ました。また、定量研の地下2階に設置されたハイエンドクライオ電顕（Thermo Fisher Scientific社Krios G4）を見せていただきました。これまで、話に聞くだけならそれこそBlackboxでしたが、実際に実機の中身を見せてもらうと、その原理や実験操作の流れが良く理解できました。



胡桃坂研ご自慢のクライオ電顕の中身。でかくてカッコいい箱に入っていて、開けてみるとワクワクするほどの装置感。上部にクレーンが設置されていて、機器の交換はそれで行うとのこと。まあ確かにこれなら総額で十億円かかるのも無理ない。

知ってみると構造は意外と普通の電顕で、ようはその精度を出すための環境整備に多くのコストがかかっているとわかりました。とはいえ、あらためてその維持管理に係るコストの膨大さ、それを達成するための資金繰りに眩暈がしました。ちょうど実験をしている最中だったようで、滝沢さんや小笠原さんを中心に機器を動かし、佐藤さんや鯨井さんと楽しそうに作業されているのが印象的でした。



肝心のクライオ電顕前で写真を撮るのを忘れてしまったので、赤門前でパチリ。

5. 成果紹介

■木村暁計画研究代表、坂上貴洋分担らの論文がPhysical Review Letters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。

Formulation of chromatin mobility as a function of nuclear size during *C. elegans* embryogenesis using polymer physics theories

†Yesbolatova AK, Arai R, *Sakaue T, *Kimura A.

Phys Rev Lett. 2022 Apr 26 doi: 10.1103/PhysRevLett.128.178101.

<https://journals.aps.org/prl/abstract/10.1103/PhysRevLett.128.178101>

本「クロマチン潜在能」の主要な目標として、『多様なポテンシャルを持つクロマチンの動態と分子機構、遺伝子機能との関係をできる限り定量的に解析する』というものがある。この中で、木村暁と坂上による計画研究は『細胞核のサイズ等の物理的特徴がクロマチンに及ぼす効果を定量的・理論的に解明する。胚発生を通じてこれらの物理パラメータやクロマチンの動態を定量計測するとともに、高分子物理学に基づいたin silico理論モデルの構築を行う』ことを目標としている。

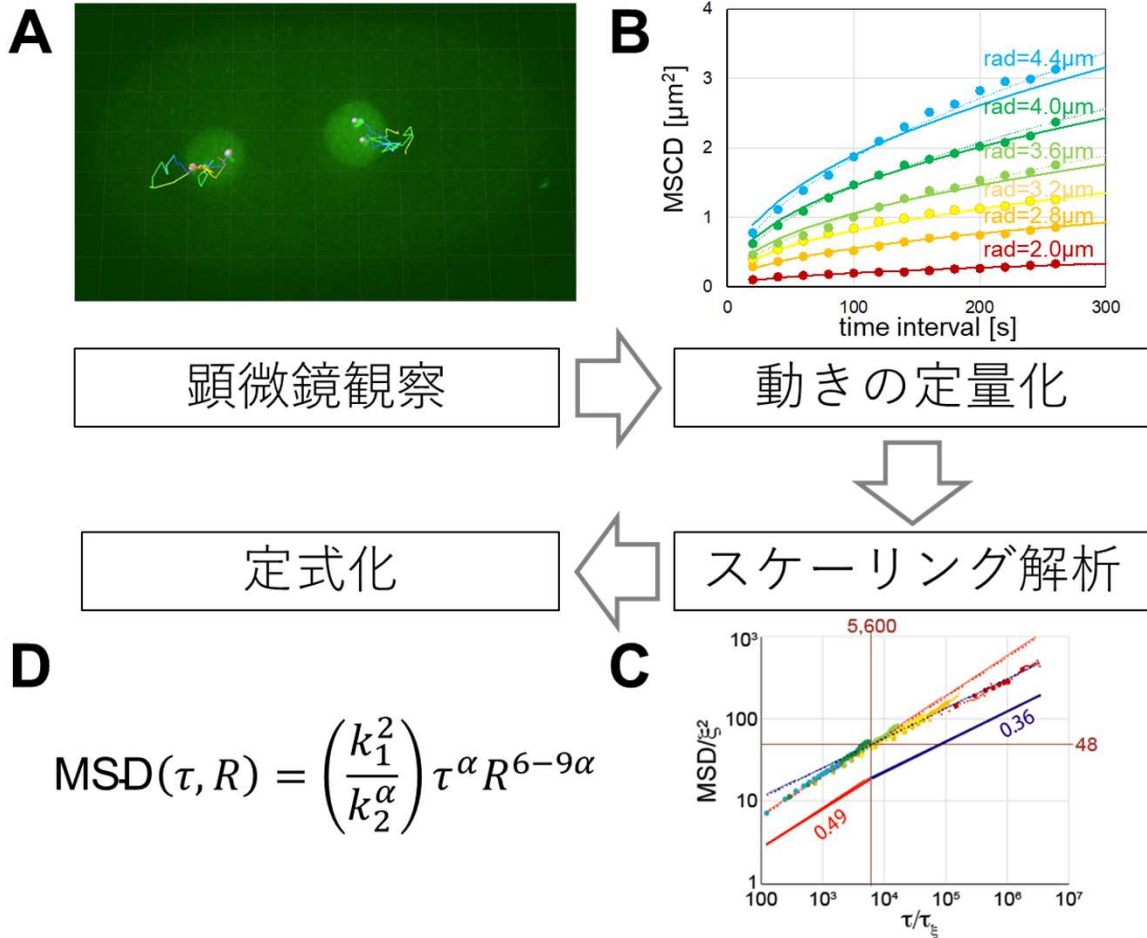
本論文では、線虫*C. elegans*の初期胚発生におけるクロマチンの運動性を定量計測し(図A)、クロマチンの運動性が細胞核のサイズに依存することを実験的に突き止めた(図B)。他方で、高分子物理学に基づいて、クロマチンを細胞核という球状の容器内に閉じ込められた準希薄溶液中のポリマーと見立てて、クロマチンの動きと核サイズの関係性を定式化した。この理論では、(i) メッシュサイズと呼ばれるポリマーが作る網目のサイズより大きな運動は、容器(核)のサイズに影響を受けること、(ii) メッシュサイズは容器(核)のサイズに依存して決定されること、(iii) ポリマーの移動度(平均二乗変位、MSD)をメッシュサイズで規格化すると、異なる大きさの核内で観察された様々な大きさのクロマチンの運動が一つの方程式で記述されること(図C,D)、が予想された。実際に線虫で測定されたクロマチンの運動性のデータは、これらの理論的な予想と一致し、クロマチンの動態が高分子物理学に基づいた理論でとてもよく記述できる(図C,D)ことを示すことに成功した。

本研究は、クロマチンの動きに対して核内密度という物理的要因が有する潜在的な役割を定量的・理論的に明らかにしたものとして、本領域の趣旨に合致したものである。今後は、クロマチンの動きや核内密度が遺伝子発現制御において果たす役割を定量的・理論的に明らかにするために研究を継続したい。(図は次ページにあります。)

この成果は、国立遺伝学研究所、青山学院大学、総合研究大学院大学からプレスリリースされ、広く国民に周知されました。

プレスリリースサイトは、以下の通りです。

https://www.nig.ac.jp/nig/images/research_highlights/PR20220427.pdf



図, 高分子物理学を用いて細胞内でのクロマチンの動きを核の大きさの関数として定式化することに成功した。(A) 線虫 *C.elegans* 初期胚におけるクロマチンの運動性の生細胞細イメーシング。(B) 核サイズ(半径=rad)が大きいほど、クロマチンの運動性(MSCD: mean squared change in distance、距離変化の二乗平均)は大きかった。(C) MSCDをMSDに変換し、さらにメッシュサイズ(ξ)と対応する時間スケール(τ_ξ)を見積もり、それでMSDと測定時間間隔 τ を規格化すると、様々な核で測定した結果が1本の線に収れんした。このことは高分子物理学の理論で細胞内の染色体の動きを表せることを意味する。(D) 収れんした線を表す方程式を得ることによって、染色体の動き(MSD)を時間 τ と核の半径Rの関数として定式化することに成功した。

■胡桃坂仁志計画研究代表の論文がScience誌に掲載されました。

Structural basis of nucleosome disassembly and reassembly by RNAPII elongation complex with FACT

†Ehara H, †Kujirai T, Shirouzu M, *[Kurumizaka H](#), *Sekine S

Science. 2022 Aug 19 doi: 10.1126/science.abp9466.

<https://www.science.org/doi/10.1126/science.abp9466>

本論文は、クロマチンにおける遺伝子発現において、RNAポリメラーゼII(RNAPII)伸長複合体がヒストンシャペロンFACTの助けを借りてヌクレオソームを解体し、その後、ヌクレオソームを再構築する機構を明らかにしたものである。

クロマチン構造を形成したゲノムDNAでは、無数のヌクレオソームが連なっている。RNAポリメラーゼIIはゲノムDNAを転写する際に、進行方向の前方でヌクレオソームを解体する一方で、共役して転写後にヌクレオソーム再構築することで、クロマチン構造を維持していると考えられている。今回、RNAPII伸長複合体(EC)がヌクレオソームを乗り越える際に、ヌクレオソームが解体されて再構築される機構を明らかにすることを目的として、試験管内転写系を用いて実験を行った。具体的には、転写伸長因子Spt6、Spn1、Paf1C、Elf1、Spt4/5、TFIISと、ヒストンシャペロンFACTの存在下で転写反応を行い、ヌクレオソーム上の様々な位置で停止したRNAPII伸長複合体(EC)の立体構造をクライオ電子顕微鏡を用いて解析した(図1)。その結果、ECの先端がヌクレオソーム上のSHL(Superhelical location) -1(ヌクレオソームの入り口から42塩基目), 0(49塩基目), +1(58塩基目), +6(115塩基目)の位置で停止した、EC42、EC49、EC49B、EC58hex、EC58oct、EC115の6つの複合体の立体構造を決定した(図2)。

EC42、EC49、EC49BではECの下流側にヌクレオソームが存在していたが、EC58hex、EC58oct、EC115では、上流側にヌクレオソームが転移している様子が観察された。EC42、EC49、EC49Bでは、ECの下流でヌクレオソームのDNAが剥がされていく様子と、FACTが結合する様子が明らかになった。EC58hex、EC58oct、EC115では、ECの上流でヘキサソーム(EC58hex)またはオクタソーム(EC58oct)としてDNA上にヒストンが再集積され、ほぼ完全なヌクレオソーム(EC115)が再構成されつつ、FACTが解離する様子が明らかになった。

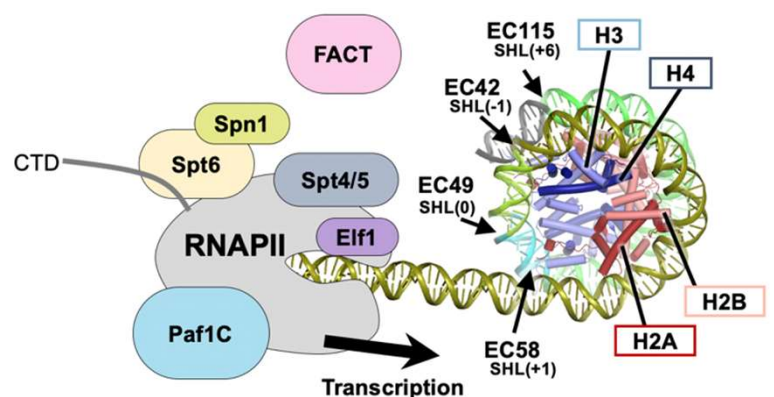


図1, ヌクレオソームDNA転写実験の概念図

以上から、ECによる転写によってヌクレオソームが解体され、再構築される一連の様子が明らかになった。これらの構造は、転写においてクロマチン構造とエピゲノム情報が維持される機構を明らかにした。

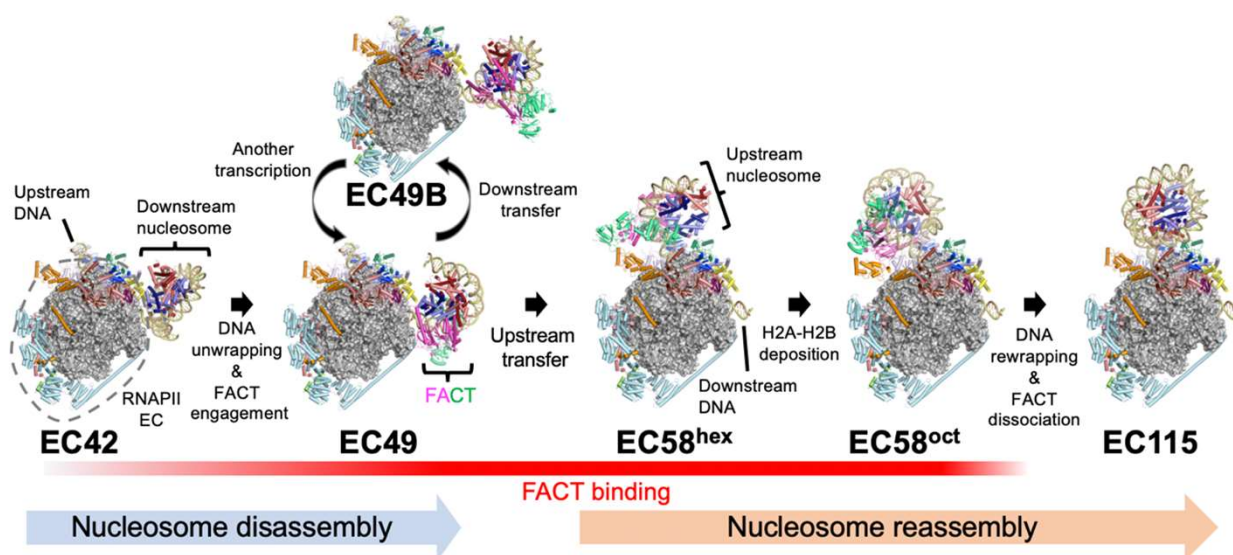


図2, 今回明らかになった立体構造群。EC42ではFACTは部分的に結合しており、EC49ではFACTは強固に結合していた。EC49Bは、EC49からFACT-ヒストン複合体が下流側に転移していた。上流側に転移するとEC58となり、H2A-H2Bが挿入された後、DNAが巻き戻り、FACTが解離してほぼ完全なヌクレオソーム (EC115) となる。

この成果は、理化学研究所、東京大学定量生命科学研究所からプレスリリースされ、広く国民に周知されました。

プレスリリースサイトは、以下の通りです。

https://www.riken.jp/press/2022/20220819_1/index.html

■山本哲也公募研究代表、山崎智弘公募研究代表の論文が、Frontiers in Molecular Biosciences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。

Triblock copolymer micelle model of spherical paraspeckles

†*[Yamamoto T](#), †[Yamazaki T](#), and [Hirose T](#)

Front Mol Biosci. 2022 Aug 22 doi:10.3389/fmolb.2022.925058

<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmolb.2022.925058>

核はDNAの様な溶液ではなく、クロマチン間領域にさまざまな核内構造体が存在する。核内構造体は、RNAとタンパク質の複合体（RNP複合体）が液液相分離することによって形成されることが議論されてきた。共同研究者の山崎さんと廣瀬先生（阪大）は、核内構造体の骨格を担うクラスのRNAがあることを発見されており、そのようなRNAをarcRNAと名付けられている。パラスペックルは、NEAT1_2と呼ばれるarcRNAから形成される核内構造体で、NEAT1_2の両末端がシェル部に局在化し、中央部がコア部に局在化したコア-シェル構造を形成する。この構造は、三種類の高分子を結合して合成されるABCブロック共重合体が溶液中で形成するミセルと類似している（図1a）。パラスペックルをミセルとして考えると、NEAT1_2の末端を短くした変異体のパラスペックルの構造をよく説明できるということは、山崎さんと廣瀬先生との共著論文（Yamazaki et al., EMBO J., 2021）で既に発表している（2021年9月のニュースレターも参照してほしい）。本論文は、その理論部分をまとめたものである（同時に提出したのだが、分子生物学系の雑誌にこだわったため、時間がかかってしまった）。

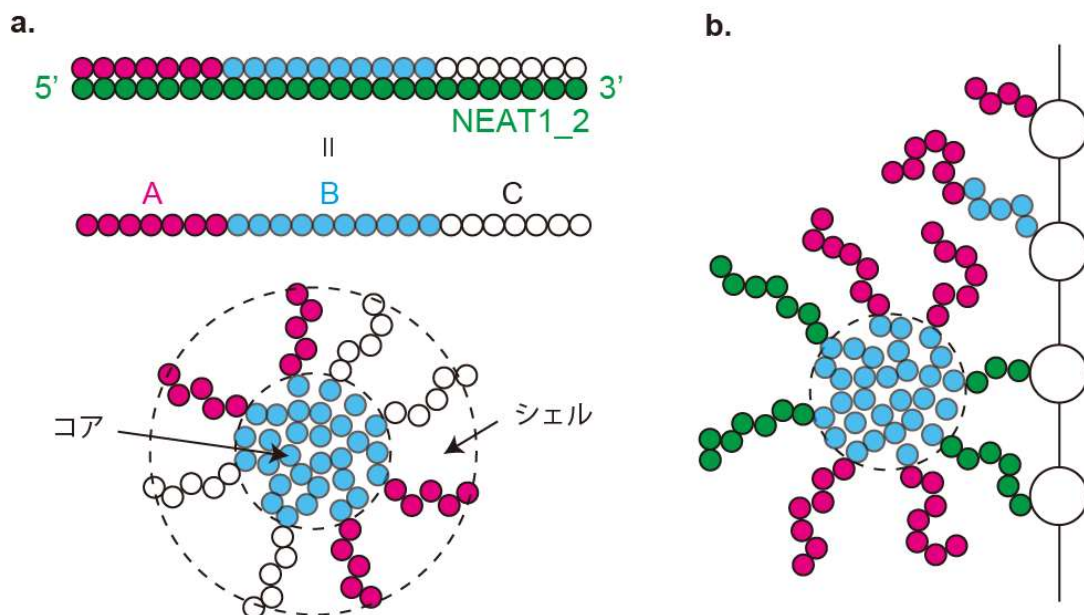



図1a, パラスペックルのABCブロック共重合体モデル、
b, NEAT1_2の転写のパラスペックル形成への寄与



パラスペックルのミセルとしての側面は山崎さんの記事でよく説明されているので、ここでは、理論のもう1つの柱である転写との共役に関して少し書き足したい。新しく生成されたパラスペックルはNEAT1_2の転写サイト付近で観察され、NEAT1_2の転写を止めるとパラスペックルが消失してしまうため、パラスペックルの生成はNEAT1_2の転写と共役していると考えられる。高分子ミセルは、熱平衡状態の溶液中で、ブロック共重合体が会合することによって形成される。一方、パラスペックルは、RNAポリメラーゼIIによって転写サイトに束縛されている、転写バースト中の新生NEAT1_2が会合するために形成されることが考えられる(図1b)。溶液中でばらばらに拡散している高分子よりも、同じ転写サイトにつなぎ留められている高分子の方が会合しやすいことは直感的だろう。

NEAT1_2の転写量を増やすと、末端を短くした変異体では、コア部に局在化する末端の割合が増えるというこの理論の予言は、山崎さんの実験結果とコンシステントである。パラスペックルの大きさと数が、NEAT1_2の転写バーストの大きさと頻度とどのように関係しているかということが分かると、パラスペックルの形成機構がさらに詳細に分かると考えている。今後は、本理論を他の核内構造体の形成機構への拡張と核内構造体の機能を理論的に予言する研究にも挑戦したい。

本研究は、ほとんど知識がなかった私に、山崎さんと廣瀬先生が根気強くパラスペックルについて教えてくれたためにやりとげることができました。山崎さんと廣瀬先生、および、彼らとの出会いを与えてくれたクロマチン潜在能に大変感謝しております。



■山縣一夫計画研究代表らの論文がBiochemical and Biophysical Research Communications (BBRC) 誌に掲載されました。

Micronucleus formation during early cleavage division is a potential hallmark of preimplantation embryonic loss in cattle

†Yao T, Ueda A, Khurchabilig A, Mashiko D, Tokoro M, Nagai H, Sho T, Matoba S, *Yamagata K, *Sugimura S

Biochem Biophys Res Commun. 2022 Aug 30

doi:10.1016/j.bbrc.2022.05.075. Epub 2022 Jun 1.

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0006291X22007860>

この文章を読んでいる方の多くは、「なんでクワマチンでウシの論文やねん！」とツッコミを入れておられるでしょう。たしかに、人工細胞核やエピゲノム編集とはあまり関係はない。ただ、この論文では本領域で培った受精卵の核・染色体イメージングの観察技術がいかんなく活用されている。

本研究では、Histone H2B-mCherryのmRNAを注入し、染色体分配の様子を生きたまま捉えたウシ体外受精卵から、健康な子牛を産ませることに成功した。観察した受精卵の半数以上で8細胞期までに1回以上の染色体分配異常が認められ、それらの80%以上が胚盤胞期に到達する前に発生を停止した。一方、染色体分配異常が認められた受精卵でも、胚盤胞期まで発生すれば、移植後に子牛になりうることが分かった。マウスとは異なり、ウシは受精卵の大きさがヒトに似ていること、また、ヒトと同様に染色体異常が起きやすいことから、家畜生産のみならずヒトの不妊治療において、新たな受精卵の選別技術や指標を提供することが期待される。小さな歩みだが、基礎研究の成果が応用研究に繋がっていることを少しでも実感していただくと幸いである。現在、木村宏領域代表と協力しつつ、本領域で得られた知識や技術などをさらに活用し、ウシ胚でより詳細に核や染色体を可視化できる蛍光プローブの開発を行っている。今後の続報に乞うご期待！

なお、本研究は近畿大学のほかに東京農工大学、扶桑薬品工業、農研機構からなる共同グループでなされた。

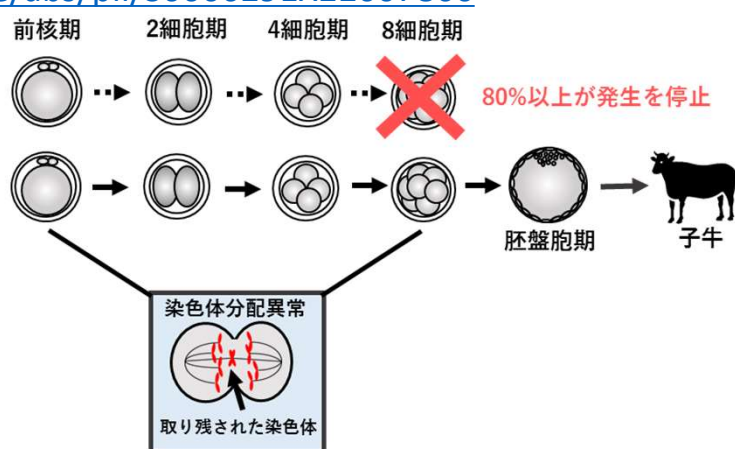


図1, 体外受精卵の67%が8細胞期までに1回以上の染色体分配異常を起していた。それら染色体分配異常を起した受精卵のうち80%以上が胚盤胞期に到達することなく発生を停止した。一方、染色体分配異常を起した場合でも胚盤胞期まで発生した受精卵は、染色体分配が正常に起こった受精卵と同等の出生率であった。



図2, ライブセルイメージングにより染色体分配の様子を観察した受精卵から誕生した子牛。この子牛は2細胞期から4細胞期の間で染色体分配異常が起こった受精卵から誕生した。なお、生まれた2頭には「くろも」と「そめ」と名付けた。英語にして合わせると、「Chromosome」になる。

6. 今後の予定

■新学術領域・学術変革領域 A 合同「若手の会 2022」 (クロマチン潜在能・全能性プログラム・ゲノムモダリティ合同開催)

日 時： 2022年10月31日(月)～11月2日(水)

会 場： SORA-RINKU

大阪府泉南市りんくう南浜2番201泉南りんくう公園内

<https://sora-rinku.com/>

世話人： 山縣 一夫（近畿大学）、落合 博（広島大学）

■第95回 日本生化学会大会

日 時： 2022年11月9日(水)-11日(金)

会 場： 愛知県・名古屋国際会議場

会 頭： 門松 健治（名古屋大学）

Homepage： <https://www2.aeplan.co.jp/jbs2022/>

当領域共催シンポジウム

「クロマチンの動的構造変換とエピジェネティック制御」

日 時： 2022年11月10日(木) 16:40-18:40

会 場： 第14会場（432）

オーガナイザー：中山 潤一（基礎生物学研究所）、胡桃坂 仁志（東京大学）

講演者：胡桃坂 仁志（東京大学）、大川 恭行（九州大学）

当領域研究者オーガナイズシンポジウム

「転写促進と抑制 — 表と裏から理解する遺伝子発現制御」

日 時： 2022年11月10日(木) 16:40-18:40

会 場： 第16会場（133+134）

オーガナイザー：酒井 寿郎（東北大学）、眞貝 洋一（理化学研究所）



■第42回 日本分子生物学会年会

日 時： 2022年11月30日(水)-12月2日(金)

会 場： 千葉県・幕張メッセ

年会長： 深川 竜郎（大阪大学）

事前参加登録受付： 2022年7月1日(金)-10月7日(金)

Homepage: <https://www2.aeplan.co.jp/mbsj2022/>

当領域研究者オーガナイズシンポジウム

1. 「WPI joint symposium for interdisciplinary life sciences (3AS-02)」

日 時： 2022年12月2日(金) 9:00-11:30

会 場： 第2会場

オーガナイザー： 古寺 哲幸（金沢大学）、見學 美根子（京都大学）

当領域研究者オーガナイズワークショップ

1. 「サイズスケーリングからひも解く細胞内世界の混沌と調和 (1AW-07)」

日 時： 2022年11月30日(水) 9:30-12:00

会 場： 第7会場

オーガナイザー： 山本 一男（長崎大学）、原 裕貴（山口大学）

2. 「ゲノム機能の理解に迫る生細胞エピジェネティックイメージング (1AW-13)」

日 時： 2022年11月30日(水) 9:30-12:00

会 場： 第13会場

オーガナイザー： 落合 博（広島大学）、木村 宏（東京工業大学）

3. 「多様な複製システムによる環境変動対応のメカニズム (2AW-09)」

日 時： 2022年12月1日(木) 9:30-12:00

会 場： 第9会場

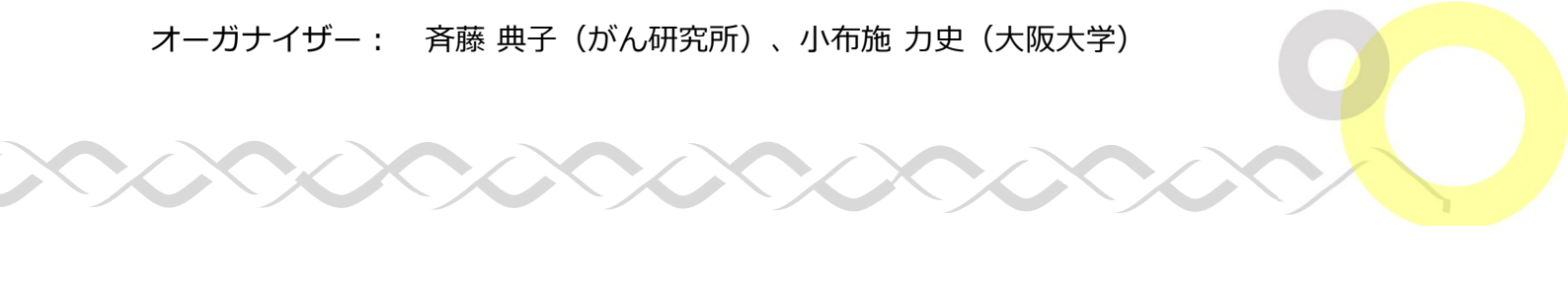
オーガナイザー： 正井 久雄（東京都医学総合研究所）、片山 勉（九州大学）

4. 「クロマチン潜在能に働きかけるエピゲノムと核内構造体 (2AW-16)」

日 時： 2022年12月1日(木) 9:30-12:00

会 場： 第16会場

オーガナイザー： 齊藤 典子（がん研究所）、小布施 力史（大阪大学）



5. 「クロマチン構造と転写制御 (2PW-13)」

日 時： 2022年12月1日(木) 16:15-18:45

会 場： 第13会場

オーガナイザー： 佐藤 優子 (東京工業大学)、胡桃坂 仁志 (東京大学)

6. 「細胞核を造る ～物理化学的視点に着目して～ (2PW-18)」 **当領域研究協賛**

日 時： 2022年12月1日(木) 16:15-18:45

会 場： 第18会場

オーガナイザー： 山縣 一夫 (近畿大学)、木村 暁 (遺伝学研究所)

7. 「生命現象の制御と疾患に伴うゲノム三次元構造動態 (3AW-08)」

日 時： 2022年12月2日(金) 9:30-12:00

会 場： 第8会場

オーガナイザー： 平谷 伊智朗 (理化学研究所)、金田 篤志 (千葉大学)

当領域研究者ランチョンセミナー

「未来の日本の学生はマンモス復活の夢を見るか? (3BT-06)」

日 時： 2022年12月2日(金) 11:45-12:35

会 場： 第6会場 (304) 150席

発表者： 山縣 一夫 (近畿大学)

共 催： 株式会社モノクローナル抗体研究所

■ EMBO Laboratory Leadership Course

(第45回日本分子生物学会年会の公式サテライトイベント：当領域研究協賛)

日 時： 2022年12月3日(土) 10:00-18:00 (18:00-20:00：懇親会)

会 場： 東京国際フォーラム ガラス棟4F会議室G407号室

主 催： EMBO Solutions

Women in Science Japan (WiSJ)


オーガナイザー： 岡田 由紀 (東京大学)、齊藤 典子 (がん研究所)、

平谷 伊智朗 (理化学研究所)、木村 宏 (東京工業大学)

問い合わせ先： Women in Science Japan事務局

E-mail: wisj.2019@gmail.com

<https://www.wisj.online/about-us>



■ **International Symposium for Female Researchers
in Chromatin Biology 2022 (ISFRCB2022)**
(第45回日本分子生物学会年会の公式サテライトイベント：当領域研究協賛)

日 時： 2022年12月5日(月) 17:00-20:00 (Zoomオンライン開催)

登 録： <https://www.wisj.online/>

主 催： EMBO Solutions

Women in Science Japan (WiSJ)

オーガナイザー： 岡田 由紀 (東京大学)、齊藤 典子 (がん研究所)、
平谷 伊智朗 (理化学研究所)、木村 宏 (東京工業大学)

問い合わせ先： Women in Science Japan事務局

E-mail: wisj.2019@gmail.com

<https://www.wisj.online/about-us>

■ **第40回染色体ワークショップ・第21回核ダイナミクス研究会**
(当領域研究 共催)

日 時：2022年12月20日(火)~21日(水) オンライン

当領域研究者世話人：平谷 伊知郎 (理化学研究所)、木村 暁 (遺伝学研究所)

編集後記：

いくつかの台風とともに秋らしい季節が来ました。科研費申請で大変な時期を過ごされたかたも多いかと思います。自分の研究を振り返り、今後を考えるよい機会となればよいですね。(NS)

ミーティングレポートや、サイトビジットなどの賑やかな記事が増え、対面での交流が活発になってきていることを感じています。

学会シーズンになりましたね。また、色々な情報を届けられればと思います。(TF)

