

※公募要領が公開されました。奮ってご応募ください。

<http://nucleosome.kyushu-u.ac.jp/essential.html>

1. 公募研究の紹介: がん研究会・広田 亨 (※2015年7月本領域終了)
2. クロマチン動構造国際シンポジウムの報告
3. 受賞: 木村宏計画研究代表が Robert Feulgen Prize を受賞しました。
4. 成果紹介:
 - ① 平岡 (公募研究)らの領域内共同研究による論文が、Nat Commun 誌に掲載されました。
 - ② 新富 (公募研究) らによる論文が、Nat Cell Biol 誌に掲載されました。
 - ③ 大川 (計画研究)らの領域内共同研究による論文が、Epigenetics Chromatin 誌に掲載されました。
5. 今後の予定

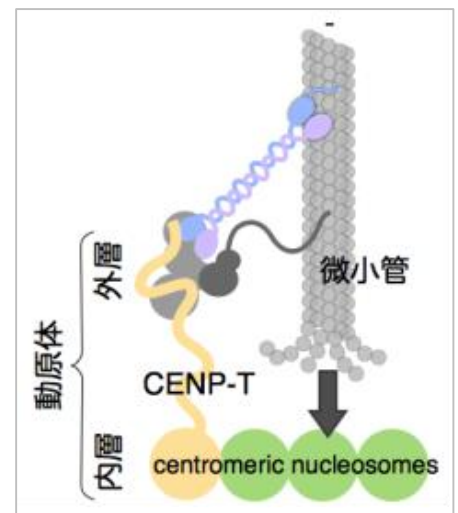
1. 公募研究の紹介

【セントロメア・クロマチンの動構造の分子基盤と意義】

研究代表者：広田 亨 (財団法人 がん研究会 がん研究所)

セントロメアは、細胞分裂において染色体動態の制御中枢を担う特殊な染色体ドメインであり、微小管と相互作用をするための動原体が形成されます。われわれは先行研究で、分子イメージング法を応用して、動原体は伸張と収縮を繰り返すダイナミックな構造体であることを見出しました。つづく本研究では、この「染色体ストレッチング」と呼ぶこの現象に焦点を絞り、セントロメアの動的な構造変化の分子機構とその生物学的意義の解明を進めました。その結果、動原体のストレッチングは、動原体の構成因子 CENP-T の長大な天然変性領域の関与が明らかになりました。つまり、この可変ドメインが動原体の内層と外層を繋ぐスプリングとなっていることで、微小管の重合・脱重合によって動原体も伸張・収縮をすることを突き止めました。そしてその知見をベースにして、ストレッチング運動を人為的に操作する実験系を作り出すことに成功しました。それを活用することで、動原体構造の変化がいかんM期チェックポイント信号を制御するのかについて鋭意解析を進めており、動原体の制御機構に「クロマチン動構造」という新たな視点の導入を試みています。

(広田研究代表が他領域の計画代表となられたため、本公募研究は 2015年7月をもって終了しました)



2. クロマチン動構造国際シンポジウムの報告



クロマチン動構造国際シンポジウム (International Symposium on Chromatin Structure, Dynamics and Function)を開催しました。

日程：2015年8月23-26日

場所：淡路夢舞台国際会場（兵庫県淡路市）

オーガナイザー：

胡桃坂仁志、木村宏、原口徳子

主催・共催：

本新学術領域、情報通信研究機構、
公益財団法人 井上科学振興財団、
公益財団法人 内藤記念科学振興財団、
公益財団法人 テルモ科学技術振興財団、
公益財団法人 兵庫県国際交流協会

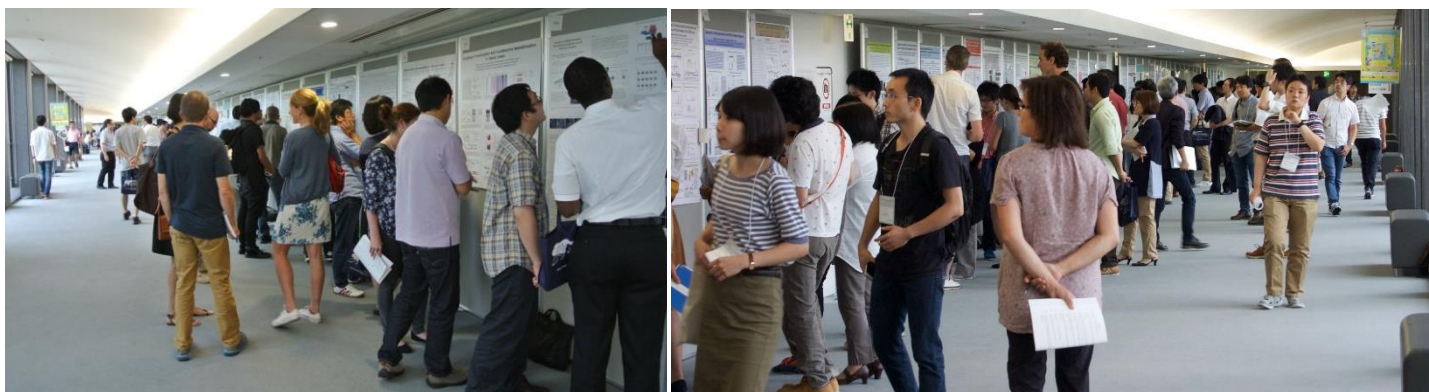
動的クロマチン構造と機能をテーマとした国際シンポジウムを開催しました。海外から22名（うち、15名が招待演者）、国内から125名の計147名が参加しました。参加国は、日本はもちろんのこと、米国、イギリス、ドイツ、フランス、ノルウェー、オーストリア、スイスなど10カ国以上に及びます。また、国内参加者として、沖縄大学院大学（OIST）や京大、理研などから、外国籍の研究者が多数参加していることが印象的でした。会議では、クロマチンの動的な構造や機能について、原子構造から動物個体まで様々な階層における最新の研究成果の発表（口演45題、ポスター70題）をもとに、活発な議論を行いました。また、休憩時間や“深夜のセッション”でも個々の研究に対する深い議論や共同研究の話が進んだようで、有意義な国際会議になりました。海外演者も含め、多くの参加者に大変好評を博しました。

📍国際学会に参加して

2015年8月23日から26日まで、兵庫県淡路島の淡路夢舞台にて開催された、“International Symposium on Chromatin Structure, Dynamics, and Function”に参加しました。本会議には、クロマチン研究分野の最前線でご活躍されている著名な研究者が海外からも多くご出席されており、国際会議初参加であった私は、今まで参加していた学会とは異なる空気に当初は驚いたものの、とても新鮮で、非常に充実した有意義な4日間を過ごすことができました。

著名な先生方によるプレゼンテーションは、どの発表も迫力があり感銘を受けました。特に印象に残っているのは、クロマチンの基本単位であるヌクレオソームと転写因子の結合モードについて解析された Michael Guy Poirier 先生の発表で、生化学的解析とシミュレーションを組み合わせる





ことで、転写因子がヌクレオソームに対してどのように結合しているのか明らかにする手法は明快でとても美しかったです。質疑応答の時間には、質問者が後を絶たず活発な議論が行なわれ、会場全体の熱の高まりを感じました。白熱した議論はプレゼンテーション後も収まることを知らず、夜のディスカッションタイムまで続きました。ディスカッションタイムでは発表中に質問できなかった学生も積極的に質問しており、大いに盛り上がった会は毎日深夜まで続きました。

日頃から論文で名前を拝見する先生方と直接お話できたことも貴重な経験でした。2日目に行われたポスター発表では、Frederic Berger 先生をはじめとする著名な先生方の前で発表し、緊張と興奮で体中から汗が吹き出てきましたが、先生方から研究テーマに関する重要なご指摘をいただくだけでなく、今研究していることが今後の人生に影響していくのでよく励むようにとの暖かい励ましもいただくことができました。Hi-C 法を用いたクロマチン三次元構造の解明に取り組んでいる Peter Fraser 先生から、二倍体細胞を用いたクロマチン三次元構造の解明に向けた最前線の研究内容を拝聴できたことも、忘れることのできない経験です。語学的にも内容的にも稚拙な私の質問に対して丁寧に聞いて答えて下さる姿勢に、感動すら覚えました。

最終日は台風一過の雲ひとつない晴天に恵まれ、Paul A. Wade 先生と互いの文化について語り合いました。ウィーン在住の Roland Foisner 先生とは、昼食の際にオーストリア伝統的なカツレツである Schnitzel と日本のトンカツの違いについて盛り上がりました。

本会議を通して、海外でご活躍されているさまざまな研究者の方々に研究内容から研究生活、文化に至るまで直接お話を聞くことができ、海外でのサイエンスをより身近に感じ、自身が将来海外のラボに加わることを強く意識するようになりました。また、クロマチンが生命現象の根幹を担う重要な構造体であることを再認識し、日々の研究に邁進しようと思いを新たにしました。

(早稲田大学・胡桃坂研・博士後期課程一年・田口 裕之)

3. 受賞

木村宏・計画研究代表が Robert Feulgen Prize を受賞しました。Robert Feulgen Prize は、国際組織化学学会 (The Society for Histochemistry) により、組織化学・細胞化学分野で新規の方法の開発や新規の発見を行った研究者に与えられる賞で、細胞内の DNA を組織化学的に定量検出する方法 (フォイルゲン染色) の発見者の名を冠しています。

この国際賞が 1971 年に創設されて以来、日本人で初の受賞となりました。授賞式と受賞講演 (写真) は、ウィーンで開催された 24th Wilhelm Bernhard Workshop / 57th Symposium of Society for Histochemistry (8 月 17 日-22 日) において執り行われました。



4. 成果紹介

① 平岡（公募研究）と原口（計画研究代表）、浅川（計画研究分担）、木村（計画研究代表）らによる領域内共同研究の論文が、Nature Communications 誌に掲載されました。

Highly condensed chromatins are formed adjacent to subtelomeric and decondensed silent chromatin in fission yeast.

Matsuda A, Chikashige Y, Ding DQ, Ohtsuki C, Mori C, Asakawa H, Kimura H, Haraguchi T, Hiraoka Y.

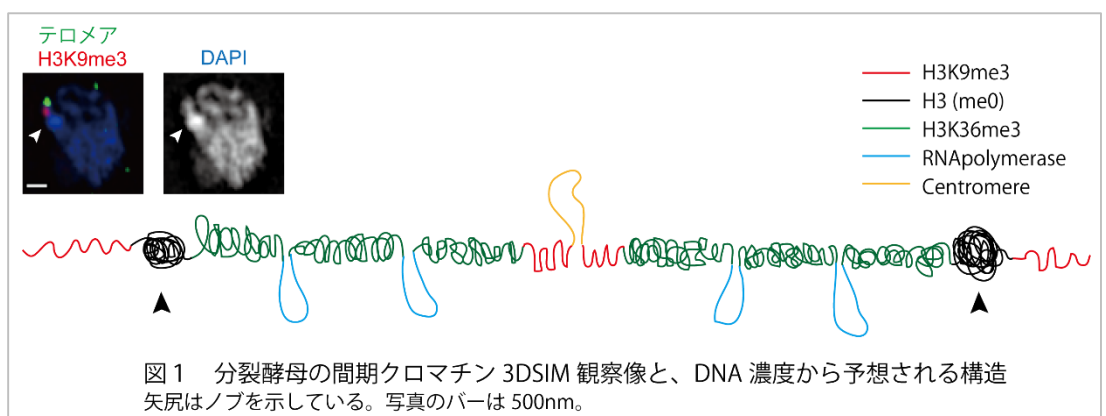
Nat Commun. 6:7753, 2015.

<http://www.nature.com/ncomms/2015/150724/ncomms8753/full/ncomms8753.html>

これまで、染色体末端（テロメア）周辺は遺伝子発現が抑制されているので、凝縮したクロマチン領域と考えられてきた。しかし今回、分裂酵母の染色体を超分解能顕微鏡法のひとつである3次元縞構造照明法（3D-SIM）で観察した結果、テロメア周辺は緩んだクロマチン構造を持ち、高度に凝縮した領域は、それに隣接した領域であることがわかった。従来の顕微鏡の分解能では見分けることができない微小なテロメア領域と隣接する凝縮領域が、今回の超分解能観察により、初めて識別が可能になった。以下に、その結果を解説する。

分裂酵母は3本の染色体を持つ。分裂酵母を固定後に、染色体とヒストン翻訳後修飾を、それぞれ DAPI と抗ヒストン抗体で染色し 3D-SIM 法で観察し、DNA 濃度に対するヒストン翻訳後修飾の量を定量した。DNA 濃度の計測には、DAPI 染色を用いた。その結果、DNA 濃度の高い凝縮した領域は、意外にもユークロマチン領域に多く存在することが知られた修飾ヒストン（H3K36me3、H3K9Ac、H3K4me2 など）から構成されていた。一方、DNA 濃度の最も低いゆるんだ領域は、意外にも、ヘテロクロマチンと定義されてきた転写不活性なヒストン修飾（H3K9me3、セントロメアマーカ Cnp1-GFP、テロメアマーカ Taz1-GFP）が存在していた。この結果は、分裂酵母のヘテロクロマチンが DNase に高い感受性を持ち、複製時期が早いという既存の報告と一致していた。以上の結果から、この生物では、転写不活性なサイレンシング領域は脱凝縮していると考えられる。さらに、サブテロメアのサイレンシング領域には、高度に凝縮した領域が隣接していることが分かった（図1）。この凝縮クロマチン体は、これまで記載が無かったため、「ノブ」と名付けた。ノブは、ほとんどのヒストン修飾抗体で染色されなかった。ヒストン修飾の少ない領域を、利用可能な全ゲノム ChIP データと見比べたところ、サブテロメア内側の約 50kb 程度に、これまでユークロマチンと考えられていたが、ヒストン修飾が少ない領域が存在することが分かった（図1）。IacO アレイを挿入して、この領域がノブであることを確認した。ノブ形成に必要な遺伝子を調査したところ、サイレンシングに必須の遺伝子である HP1 ホモログの swi6 や H3K9 のメチル化酵素の clr4 など欠損しても凝縮に変化がなかった。一方、H3K36 のメチル化酵素の set2 を欠損すると消失することが分かった。したがってノブは、既知のクロマチン凝縮とは異なる遺伝的経路により凝縮する全く新しいクロマチンであることが明らかになった。

本研究は、これまで凝縮したクロマチン領域と考えられてきたテロメアが、む



しろゆるんだクロマチン構造を取っていることを示したものであり、クロマチン構造と転写という機能との関係を明らかにする上で、画期的な成果である。3D-SIM 超分解能顕微鏡法によって、従来法では見分けることができなかった微小なテロメア領域と隣接する凝縮領域が異なることを見分けることが可能になり、これまでの常識を覆す発見をすることができた。本研究成果は、今後、遺伝子治療や再生医療分野などに貢献するものと期待される。

② 新富（公募研究）らによる論文が、Nature Cell Biology 誌に掲載されました。

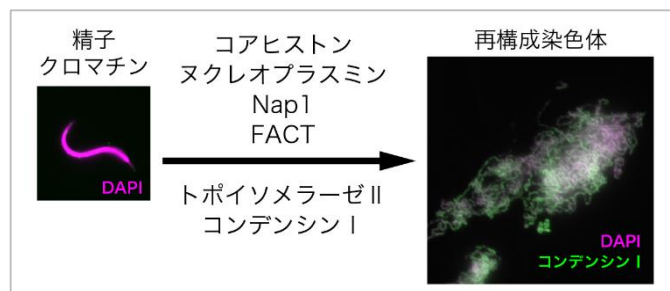
Reconstitution of mitotic chromatids with a minimum set of purified factors.

Shintomi K, Takahashi TS, Hirano T.

Nat Cell Biol. 17, 1014-1023 (2015)

<http://www.nature.com/ncb/journal/v17/n8/full/ncb3187.html>

分裂期の細胞ではクロマチンから染色体が形作られる。この美しくダイナミックな現象がどのようにして実現されるのかを理解するために、私たちは、可能な限り少ない種類の精製タンパク質を用いて分裂期染色体を試験管内に再構成することに挑戦した。カエルの精子クロマチンを分裂期のカエル卵抽出液中でインキュベートすると、単一染色分体からなる染色体が作られる。この一連のプロセスを精製タンパクのみを用いて再現する条件を絞り込んだところ、コアヒストン、3種類のヒストンシャペロン（ヌクレオプラスミン、Nap1、FACT）トポイソメラーゼII、コンデンシンIだけで必要かつ十分だった（図）。この再構成系を用いて、初期胚型ヒストンバリエント H2A.X-F と FACT の組合せがヌクレオソームの不安定化をもたらし、トポイソメラーゼIIやコンデンシンIが働くために適した場を与える可能性が示唆された。さらに、染色体構築において最も重要な翻訳後修飾は、Cdk1によるコンデンシンIのリン酸化であることも明らかになった。今後、リンカーヒストン、様々なヒストンバリエントや変異体を再構成系に導入することによって、クロマチンの動的構造が染色体構築に与える影響を多角的に検討することが可能になるだろう。また、染色体再構成と受精卵における雄性前核形成とは多くの共通点を有することから、ICSIなど生殖支援技術の発展に役立つ知見が得られることも期待される。



③ 大川（計画研究代表）と、木村（計画研究代表）らによる領域内共同研究の論文が、Epigenetics & Chromatin 誌に掲載されました。

Tissue-specific expression of histone H3 variants diversified after species separation

Maehara K, Harada A, Sato Y, Matsumoto M, Nakayama KI, Kimura H and Ohkawa Y.

Epigenetics Chromatin 8:35, 2015.

<http://www.epigeneticsandchromatin.com/content/8/1/35>

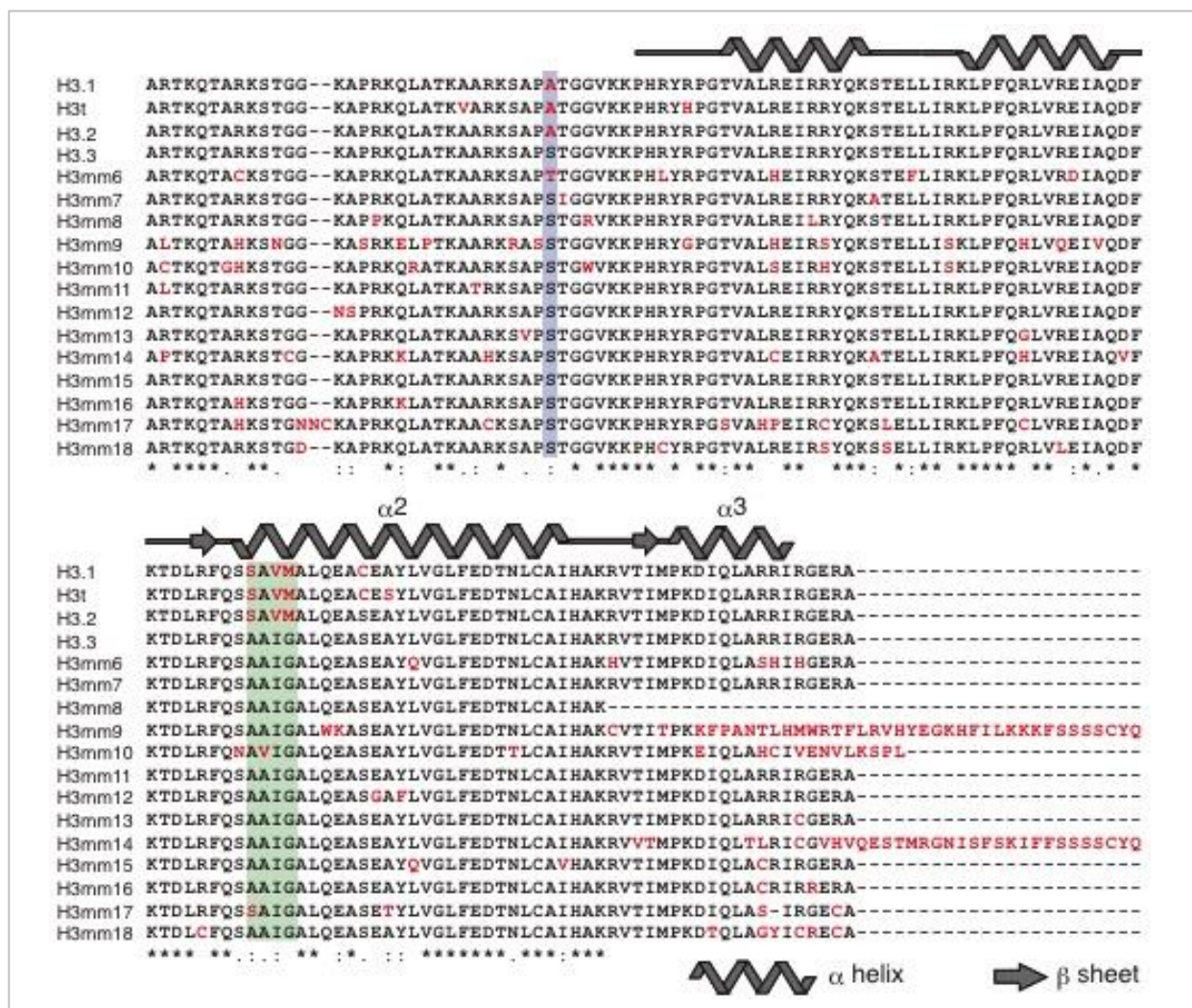
ヒストンには多くの亜種（バリエント）が存在しており、選択的な部位へのヒストンバリエントの取り込みは、クロマチン機能の調整に重要な役割を果たしている。ヒトでは、H3.3の変異が小児ガン発症の要因となり、またH3Tとよばれるヒストンバリエントが精子形成に関わるなど、ヒストンバリエント研究の重要性が認識され始めている。

私たちは、これまでに、ヒストンバリエント H3.3 が骨格筋分化運命決定およびその制御を行うことを明らかにしてきた。その過程で、H3.3 のアミノ酸配列に酷似した未知のヒストン様配列を検出し、未知のヒストン H3 のバリエントがまだ存在しているのではないかと考えた。

そこで、コンピュータを使ったゲノム配列の網羅的なヒストン様遺伝子の探索を行った結果、マウスに存在する新規の 14 種のヒストンバリエント遺伝子を同定した (図)。これら新規のバリエントについて、ゲノム上の取り込み位置や時期、遺伝子発現への影響を網羅的に解析した。その結果、14 種のうち 2 種のバリエント (H3mm7, H3mm11) は、骨格筋分化過程で取り込まれることで、分化後の遺伝子発現パターンを変容させることが分かった。また、H3t と名付けた新規バリエントについては、ゲノムの複製期に取り込まれるヒストンであることが判明し、配列との類似性から、ヒト H3T のホモログである可能性が示唆された。

さらに、系統学的な配列解析によって、多くのヒストンバリエントが種に固有なものであることが明らかとなった。マウス H3 バリエントのうち、H3t を除く 13 種はげっ歯類 (マウスやラット) の間でさえ保存性されていないマウス固有のバリエントであった。また今回同定したヒトの新規 H3 バリエントも、ヒト固有のヒストンバリエントであることが分かった。これら種固有のヒストンバリエントの存在が、ヒトやマウスなど、それぞれの種のもつ形質の固有性の決定要因のひとつとなっている可能性も考えられる。今後のさらなる詳細な解析から、各々のバリエント固有の機能的意義が明らかになってゆくと期待できる。

本研究は、本領域の設立当初よりスタートした共同研究の一部として、木村計画代表、山縣計画分担、胡桃坂領域代表との濃密なディスカッションを経て、発表に至ることができた。



5. 今後の予定

第 33 回染色体ワークショップ・第 14 回核ダイナミクス研究会 (合同開催)

日程：2016 年 1 月 12 日 (火) - 1 月 14 日 (木)

会場：松島一の坊 (宮城県宮城郡松島町高城字浜 1-4; JR 仙台駅から電車で 25 分)

<http://www.ichinobo.com/matsushima/>

田中 (公募研究)、原田 (計画研究分担) が世話人代表を務めます。詳細は改めて本領域ホームページに掲載予定です。

編集後記：この夏は殺人的に忙しかったですが、私にとってメインイベントだった国際シンポジウムは、おかげさまで盛況に終わりほっとしております。季節は秋を迎えて過ごしやすくなりましたが、学会&研究費申請シーズンの到来です。最近、肩の痛みがとれませんが、なんとか気力で乗り切ってみようと思います。

Hiki