

1. 平成 28 年度 クロマチン動構造領域会議・クロマチン動構造ワークショップ開催報告
2. 成果紹介
 - ① 齊藤らによる論文が、Nucleus 誌に掲載されました。
 - ② 原口らによる領域内共同研究による論文が、FEBS Letters 誌に掲載されました。
 - ③ 平岡らによる領域内共同研究による論文が、Genes to Cells 誌に掲載されました。
3. 学会報告:
4. 国際活動支援班からの活動報告
5. 今後の予定

1. 平成 28 年度クロマチン動構造領域会議・クロマチン動構造ワークショップを開催しました



7月7日-9日に、クロマチン動構造の領域会議と、クロマチン動構造ワークショップが、北海道留寿都で開催されました。計画研究と公募研究の研究代表者・分担者、および各研究室の若手研究者に加え、評価委員と学術調査員の先生方合わせて総勢84名が参加し、研究発表と活発な議論が行なわれました。

領域会議では、計画研究と公募研究を合わせて36題の発表があり、それぞれの発表について議論と共同研究の可能性についての検討が行われました。また、若手のポスター発表を中心としたワークショップでは31題のポスター発表があり、夜遅くまで熱い議論が続きました。ポスター発表終了後、参加者の投票による優秀発表賞が以下の若手研究者に授与されました(五十音順)。磯部真也(北海道大学)、伊藤由馬(東京工業大学)、日下部将之(東北大学)、佐藤優子(東京工業大学)、清水将裕(京都大学)



領域会議中に開催された総括班会議では、評価委員の先生方から領域の活動に対して以下のようなコメントをいただきました。

- ・領域内の連携が密に形成されていることは高く評価できる。領域内の連携形成には、胡桃坂領域代表が領域ネットワークの核となり、再構成ヌクレオソームの提供や、共同研究の実施などを積極的に行っていることが大きく貢献していると考えられる。引き続き多様な領域内共同研究が進展することを期待したい。
- ・公募研究の採択によって、理論研究が充実した。これらの研究が領域の進展に大いに貢献することが期待される。

- ・今後、インフォマティクスとシミュレーションの両方のタイプの理論研究が、ともにクロマチン研究にとって重要性を増すと思われる。この分野の研究者は日本でもまだ少なく、広報活動などを通じて、若手に刺激を与えて欲しい。
- ・前回の領域会議に比べて、研究の進展が感じられた。たとえば、ヒストンバリエーションを含むヌクレオソームの安定性・不安定性の分子構造を基礎にした理解などのダイナミクス解析が進み、また分化などの高次生命機能とのつながりも見えてきている。
- ・当該領域の総括班会議に出席して、これまで経験したことがないほど議論が活発であり、各班員が緊密なコミュニケーションで繋がっていることを実感した。即ち、計画研究の間の緊密な連携プレイが、この領域の高い実績につながっているものと推測する。



本領域会議は、参加者が講演会場に隣接したホテルに宿泊する形で行なわれたことにより、若手研究者も交えた活発な論議が夜遅くまで続けられました。それが新たな共同研究へのアイデアの醸成につながるなど、本領域の活性化にも大いに寄与する会議となりました。

2. 成果紹介

① 齊藤 (計画研究代表) らによる論文が、Nucleus 誌に掲載されました。

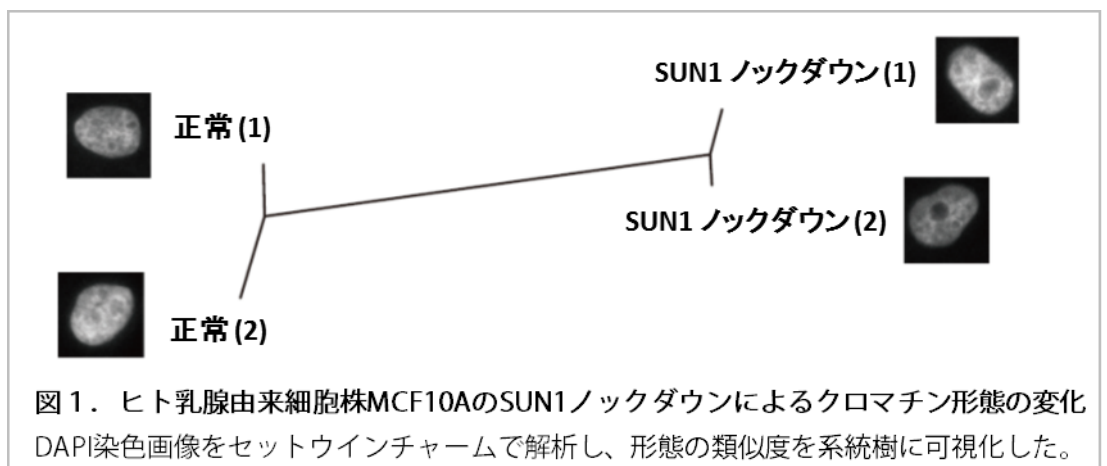
Loss of the integral nuclear envelope protein SUN1 induces alteration of nucleoli.

Matsumoto A, Sakamoto C, Matsumori H, Katahira J, Yasuda Y, Yoshidome K, Tsujimoto M, Goldberg IG, Matsuura N, Nakao M, Saitoh N*, Hieda, M*

Nucleus 2016, 7: 68-83. doi: 10.1080/19491034.2016.1149664. PMID: 26962703
<http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/19491034.2016.1149664?journalCode=kncl20>

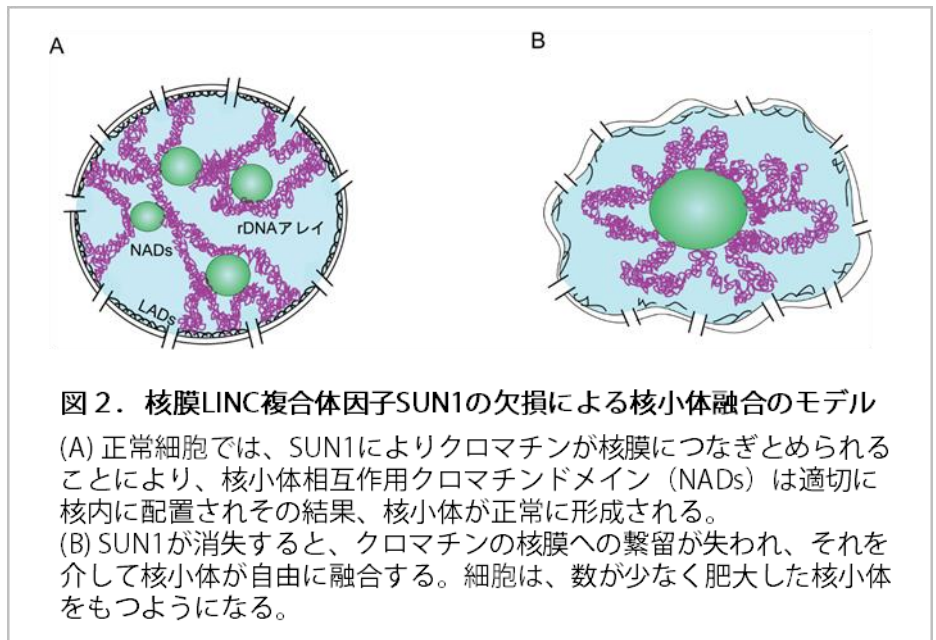
古くよりがん細胞では、クロマチンや核膜、核内構造の特徴的な変化が観察され、核異型とよばれてきた。しかしこれらの形態は複雑かつ不均一で、通常の画像解析では変化の度合いを客観的に定量することが極めて困難であった。一方、教師付き機械学習アルゴリズムウインチャーム (wndchrm) は、多数の形態特徴関数を駆使した統計解析を自動で行うもので、例えば正常とがん細胞がとりうるあらゆる形態を含む画像群、つまりポピュレーションを対象とした解析に適している。

LINC (linker of nucleoskeleton and cytoskeleton) 複合体は、SUN タンパク質を含む核膜タンパク質の集合体で、核膜と細胞骨格を連結する。最近になって、LINC 構成タンパク質は乳がん組織で顕著に減少していることがわかった。そこで私たちは、ヒト乳腺上皮において、LINC の欠損がクロマチン・核形態にどのように影響するかについて定量的な解析を行った。ヒト乳腺由来細胞株 MCF10A で LINC 構成タンパク質である SUN1、SUN2、Lamin A/C をノックダウンし、臨床病理で頻用されるパパニコロウ染色やクロマチンを可視化する DAPI 染色を施し、その画像データセットを用いて細胞形態変化を定量した。その結果、ウイ



ンチャームでは効率的に変化が認識され (図 1)、ほぼ 100%の精度で SUN1 ノックダウン細胞を分類することができた。特に SUN1 のノックダウンでは、変化が核小体に局在することを見出し、詳細解析により、核小体の数が減少したり肥大すること、rRNA 合成が低下することを明らかにした。さらに乳がん組織では、SUN1 の発現量と核小体の大きさに相関があることを示した。

本研究では、ウインチャームによる偏りのない形態の定量によって、LINC 複合体と核小体の予期しない連携 (図 2) を新たに見出し、これらが乳がん診断のよい指標となることを提唱した。



② 原口 (計画研究代表) と平岡 (公募研究代表) らによる領域内共同研究の論文が、FEBS Letters 誌に掲載されました。

Depletion of autophagy receptor p62/SQSTM1 enhances the efficiency of gene delivery in mammalian cells

Tsuchiya M, Ogawa H*, Koujin T, Kobayashi S, Mori C, Hiraoka Y, Haraguchi T*.

FEBS Lett. 2016, Jun 18. doi: 10.1002/1873-3468.12262. [Epub ahead of print]
<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/1873-3468.12262/abstract;jsessionid=00EC0A5B50FC3E3EEBA34EA A2A01BD0D.f04t02>

細胞に、外来遺伝子 (DNA) をトランスフェクション法で導入するときに、遺伝子の発現効率が低くて困ったことはないだろうか。特に、ES 細胞(胚性幹細胞)や MEF 細胞 (マウス胎性線維芽細胞) では、そのようなケースが多い。それを改善する方法として、p62 タンパク質を減少させる方法が有効であることを発見した。さらに、独自に開発した DNA ビーズを使った実験系により、p62 の減少が遺伝子導入効率を上昇させるメカニズムの一端を明らかにした。

一般的には、正常なマウスの MEF 細胞では外来遺伝子の発現効率が低い (図 1 左側)。しかし、p62 をノックアウトしたマウスの MEF 細胞では、その発現効率が 10~20 倍程度上昇した。また、p62 ノックアウト MEF 細胞に p62 を発現させると、その発現効率は減少した。さらに、正常マウス胚の ES 細胞から、p62 を siRNA 処理により減少させると、発現効率は 5 倍程度上昇した。これらの結果は、p62 が、外来遺伝子の導入・発現効率を低下させていることを示している。p62 は、転写の制御因子として知られているが、オートファジーの制御因子であるとも考えられている。我々は、p62 と外来遺伝子発現との関係を調べるために、外来 DNA として DNA ビーズを細胞内に入れて、DNA と p62 の挙動を観察した。DNA ビーズは、直径 2.8 マイクロメートルのプラスチックビーズの表面に二重鎖 DNA (約 8 Kbp) を結合させたものである。細胞内に入れた DNA ビーズは、エンドソームを通過して細胞内に取り込まれ、エンドソーム崩壊によって細胞質内に入る。正常細胞では、細胞質内に入るとすぐに、DNA ビーズ周辺にオートファジー膜が集合してくるのに対して、p62 を siRNA 処理で減少させた細胞では、オートファジー膜集合が減弱していた。すな

わち、p62は、外来DNAが細胞質に入ったときに、その周辺にオートファジー膜を誘導することで、外来DNAの分解を誘導することが分かった。

今回の発見は、細胞内に入ったDNAがどのような運命を辿るかを明らかにしたものであり、p62の量を調節することで、細胞内に導入したDNAの運命を人為的に変化させられることを示している。今後は、p62の活動を変化させることにより、細胞内に導入したDNAビーズあるいはクロマチンビーズの細胞内動態の解析に活かしていきたい。また、遺伝子治療では、外来DNAを細胞核内に効率良く伝送することが求められるが、高効率な遺伝子デリバリーを実現する上で有用な知見を提供するものである。

本研究の成果は、日刊工業新聞に取り上げられたほか、毎日新聞、京都新聞、徳島新聞、奈良新聞、エキサイトなど、多数のネットニュースで報道された。

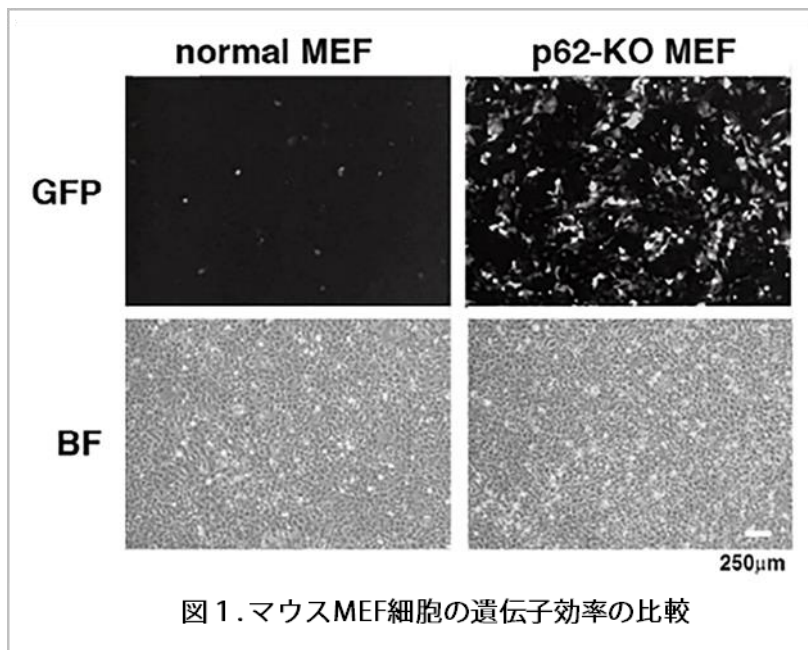


図1. マウスMEF細胞の遺伝子効率の比較

③ 平岡（公募研究代表）と原口（計画研究代表）、浅川（計画分担者）らによる領域内共同研究の論文が、Genes to Cells誌に掲載されました。

Inner nuclear membrane protein Lem2 augments heterochromatin formation in response to nutritional conditions.

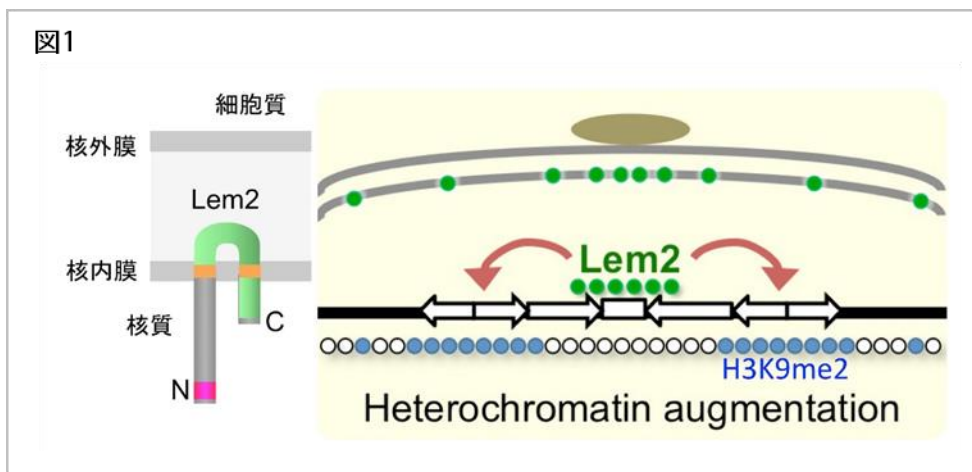
Tange Y, Chikashige Y, Takahata S, Kawakami K, Higashi M, Mori C, Kojidani T, Hirano Y, Asakawa H, Murakami Y*, Haraguchi T*, Hiraoka Y*.

Genes Cells. 2016, Jun 23. doi: 10.1111/gtc.12385.
<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/gtc.12385/abstract>

核膜は、クロマチン機能に重要な働きをされると考えられているが、その分子メカニズムは、これまで不明であった。我々は、分裂酵母を用いて、核膜タンパク質がセントロメア機能と構造に重要な働きをすることを発見した。強調しておきたいのは、この働きは、栄養状態に依存するということである。すなわち、富栄養環境では、核膜タンパク質のLem2は、セントロメアのヘテロクロマチン形成を増強するが、貧栄養環境

ではそのような増強は起こらない。本論文は、栄養環境によって、細胞がクロマチン構造を変える仕組みの一端を明らかにしたものである。

核膜タンパク質のLem2は、酵母からヒトまで保存されているタンパク質である。まず、我々は、Lem2タンパク質のN末端とC末端が核内に突き出し



ていることを免疫電顕で明らかにした (図 1 左)。Lem2 を欠損させると、分裂酵母細胞は、ミニ染色体の高頻度脱落と増殖の低下を起こした。その理由を、クロマチン免疫沈降法により詳しく調べたところ、セントロメアヘテロクロマチンの形成不全を起こしていることが分かった。興味深いことに、これらの表現型は、富栄養の完全培地でのみ見られ、貧栄養の合成最小培地では見られなかった。さらに、これら栄養に依存する Lem2 欠損表現型は、偶発的に起こる 40Kbp もしくは 10Kbp の染色体領域の重複により回復することがわかった (重複領域の両端にはレトロトランスポゾンの LTR 配列があり、LTR 配列間での組換えにより重複を生じた)。

栄養に依存する表現型を理解するために、セントロメアヘテロクロマチン状態への栄養の影響を調べたところ、富栄養状態では、ヒストン H3K9 ジメチルの蓄積が起こるのに対して、Lem2 欠損株では起こらないことが分かった (図 1 右)。栄養状態の変化に対応してヘテロクロマチンが強化されるという知見はこれまでになく、新しい発見である。今後、細胞が栄養を感知してクロマチン構造を動的に変化させることによって、クロマチン機能を制御していく分子メカニズムを明らかにしていきたい。

3. 学会報告

“Cold Spring Harbor Asia meeting, Chromatin Epigenetics and Transcription”

2016年5月9日から13日まで、中国の上海から60マイル西にある蘇州市にて“Cold Spring Harbor Asia meeting, Chromatin Epigenetics and Transcription”が開催されました。本会議は、今回で4回目の開催となり、2年に一度ずつ開催されています。日本からは招待公演として九州大学の佐々木裕之先生と早稲田大学の胡桃坂仁志先生が発表を行いました。本領域からは、中部大学の上田潤先生、胡桃坂研究室の堀越直樹さん、有村泰宏さん、鯨井智也 (筆者) がポスター発表を行いました。学会参加者は総勢約500名と大規模で、また発表は5日間で10セッション、演題数は口頭発表では57演題、ポスター発表では139演題あり、連日夜9時過ぎまで発表が行われました。演題のプログラムはクロマチン形成から始まり、植物のエピジェネティクス、クロマチン構造と non-coding RNA、シスエレメント、クロマチン修飾と、幅広い分野を網羅した内容となっていました。

今回のミーティングでは、最新の研究成果を発表することが推奨されており、つい最近発表された論文についての内容が多く見られました。世界の著名な研究者達による発表は、どの発表についてもとても充実して大変興味深い内容であり、実際に著者自身による発表を聞いたことは大変感激でした。中でも印象に残ったことは、Danny Reinberg 博士や Robert Kingston 博士をはじめとして、Polycomb repressive complex (PRC) に関する発表が多いことでした。多くの研究者が PRC に注目しており、またそれに関連してヒストンのアミノ酸変異とがんの関係に世界の関心が集まっていることを実感しました。また、次世代シーケンシングを用いた、新規のエピジェネティクス解析技術についても発表がありました。Xing-Dong Fu 博士は non-coding RNA が結合しているクロマチン領域の同定方法、Steven Henikoff 博士は複製直後のクロマチン領域の新たな同定方法を発表しており、これらの技術をもちいたエピジェネティクス分野の新展開が楽しみになりました。ポスター発表では、お昼過ぎから夕方まで時間が取られており、大変活発なディスカッションが繰り広げられ、会場は熱気に満ち溢れていました。初めての海外学会への参加であった私にとって、未熟な英語であっても時間を忘れて夢中でディスカッションできたこと、科学を通して外国人とコミュニケーション



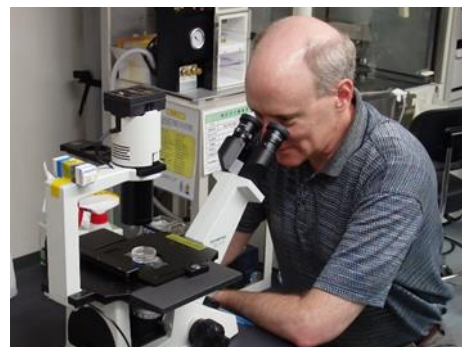
DNAの前で撮影
(左から堀越さん、有村さん、胡桃坂先生、筆者)

ーションできたことは大変貴重な経験でした。特に、中国の学生の研究に対する熱心な姿勢には圧倒されました。近年の中国の科学の著しい勢いは、この熱心な姿勢が原動力になっているだろうと感じるとともに、自分も頑張らなくては、と強く感じました。

学会の会場となった Dushu Lake World Hotel は、湖畔に面した立派な庭園を有しており、休憩時間には気持ち良く散歩しながら研究についてゆったりと考えることができました。また、アメリカの Cold Spring Harbor 研究所にもある DNA 二重らせん構造や、タンパク質の立体構造を模倣したオブジェが設置しており、研究の歴史を感じながら最前線の研究を考える機会となりました。(早稲田大学・胡桃坂研 鯨井 智也)

4. 国際活動支援班からの活動報告

■海外研究者も参加するトレーニングコース「生細胞・核構造イメージングトレーニングコース」の実施
原口（計画研究代表）が開発した生細胞高分解能イメージング技術 (Live CLEM 法) は、蛍光顕微鏡法と電子顕微鏡法を組み合わせたイメージング法であり、生きた細胞における分子ダイナミクスを、ナノメートルオーダーの細胞構造との関係で解析することができる優れた方法である。シカゴ大学 (米国) の Aaron P. Turkewitz 教授から、Live CLEM 法に関する詳細なノウハウを教えて欲しいと依頼を受け、「生細胞・核構造イメージングトレーニングコース」として同教授を研究室に受入れ、共同研究を実施した。Turkewitz 教授は、2016 年 3 月 13 日に来日し、同 5 月 15 日まで、約 2 ヶ月間に渡って滞在し、Live CLEM 法を修得した。Live CLEM 法は、主に蛍光顕微鏡法と電子顕微鏡法の 2 つからなる。それぞれの技法の習得には、時には、大変な時間が掛かるものであるが、Turkewitz 教授は、それぞれを短期間のうちに修得し、さらによりよい方法になるためのアイデアを提供してくれた。また、単に Live CLEM 法についての議論をただけでなく、研究内容に踏み込んで議論を行い、今後の展開を考える上で大きな進展をもたらした。



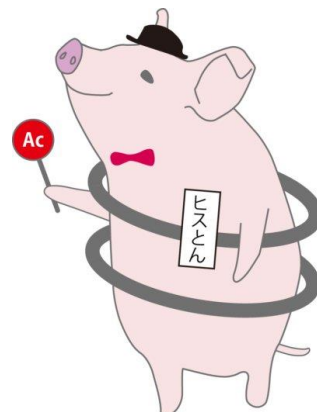
実験中の Turkewitz 教授

5. 今後の予定

一般公開シンポジウム「遺伝子のすがた～からだの中で起こる不思議～」

日時：平成 28 年 8 月 21 日 (日) 13:00 -17:00

場所：早稲田大学 国際会議場 井深大記念ホール



編集後記：厳しい残暑のなか、いかがお過ごしでしょうか？私は、国内外の出張、論文や書類の提出、各種会議や講義、実習、ヒアリングなどを抱え、特に厳しい夏を過ごしました。上手くいかなかったと思われるものもありますが、研究室のメンバーや共同研究者の皆様のおかげで、目標は概ね達成できたと思います。9月に入ると再び出張が入ってきますが、8月後半は少し落ち着いて研究や学生の指導、講義の準備などに取り組むことが出来そうです。

HiKi