

※公募要領が公開されました。
http://www.mext.go.jp/component/a_menu/science/detail/_icsFiles/fieldfile/2013/09/02/1339083_05.pdf

1. 研究紹介：【早稲田大・胡桃坂】、【日本原子力研究開発機構・河野】
2. アウトリーチ活動：一般公開シンポジウム「DNA をあやつる生物のしくみ」、
顕微鏡講習会「ケンビロー先生がやってくる!!」
3. ミーティング報告：23th Wilhelm Bernhard Workshop on the cell nucleus
4. 成果紹介
5. 今後の予定

1. 研究紹介

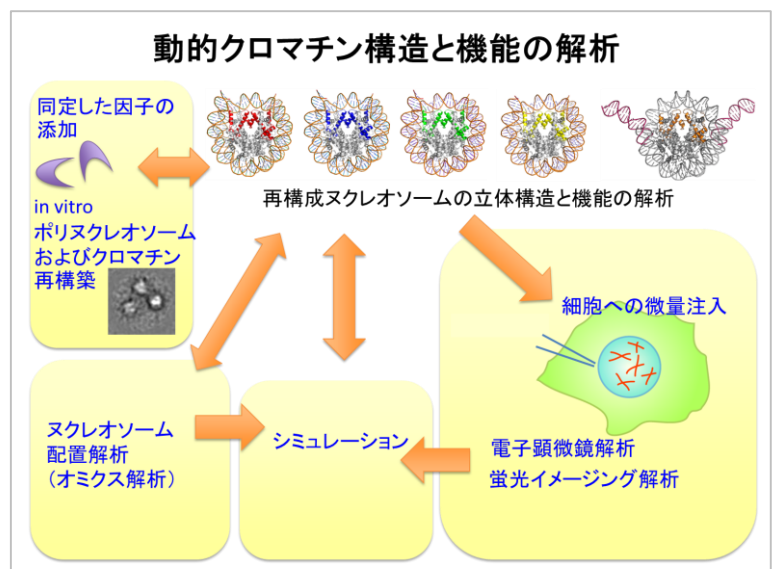
【計画研究ア 再構成ヌクレオソームを用いた動的クロマチン構造の解明】

研究代表者：胡桃坂 仁志（早稲田大学理工学術院・教授・構造生物学）

研究分担者：堀 哲也（国立遺伝学研究所・助教・染色体工学）

ヌクレオソームは、クロマチンの基盤構造である。本研究では、in vitro でのクロマチン再構成系を用いた、生化学的および構造生物学的な解析を通して、クロマチンの高次構造および動的変動メカニズムの解析を行う。並行して、遺伝学的、細胞生物学的、オミクス解析、計算科学的解析などを行い、種々のクロマチンの機能解析を行う。これらの解析を通して、真核生物の動的クロマチン構造と機能の解明に挑む。

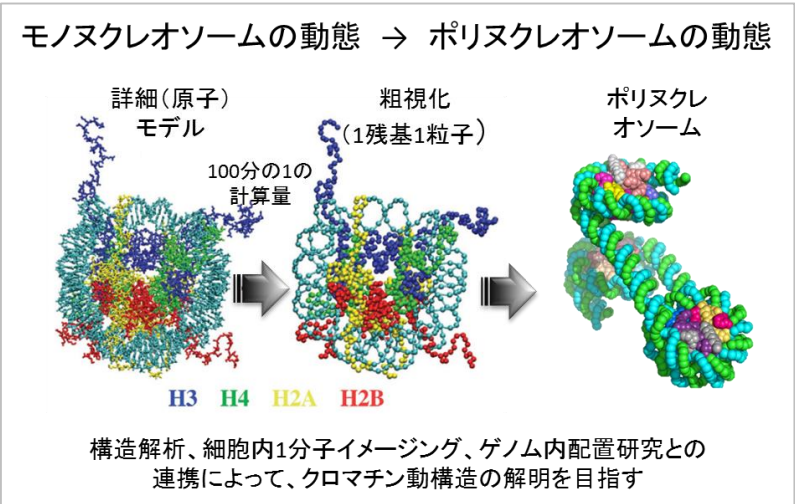
ヒストン H2A、H2B、H3、H4 は、ヌクレオソームのタンパク質成分である。ヌクレオソームでは、それぞれのヒストンが 2 分子ずつ会合して形成されたヒストン 8 量体に、約 150 塩基対の DNA が 1.65 回転巻き付いて円盤状の構造体を形成している。このヌクレオソームの構造とその動的性質が、高次クロマチン構造と機能の基盤となる。ヌクレオソームを構成するヒストンには、種々のバリエーションが存在する。さらにヒストンは、アセチル化、メチル化、リン酸化、ユビキチン化などの様々な翻訳後修飾を受けている。また、クロマチンは、リンカーヒストンとヌクレオソームが凝集した状態で、動的に構造を変えながら機能発現をしている。このような、ヒストンの違いやヒストン修飾が与えるクロマチン構造と性質への影響を、さまざまなヒストンバリエーションやヒストン修飾を含むヌクレオソームの解析から検討する。また、高次クロマチン形成に重要であるリンカーヒストンを含むヌクレオソーム（クロマトソーム）の構造解析も行う。これらの研究を通して、高次クロマチンの形成とその機能発現機構を原子レベルで理解することを目指す。



【計画研究イ シミュレーション計算による動的クロマチンのダイナミクス解析】

研究代表者：河野 秀俊（日本原子力研究開発機構・研究主幹・生物物理学）

ヌクレオソームを構成するヒストンには、これまでに知られている以上のバリエーションが存在していることがわかってきた。また、ヒストンの化学修飾は、エピジェネティクスのマーカーとして働いていることも明らかにされつつある。ヒストンバリエーションや化学修飾を受けたヒストンで構成されるヌクレオソームの結晶構造は、基本的にはカノニカルヌクレオソームによく似た構造をしている。従って、静的な構造のみからはクロマチンのダイナミックな形態変化の仕組みを理解することは難しい。本研究では、本領域で



決定される構造や既知構造にもとづき、クロマチンダイナミクスの物理的な実体であるヌクレオソームやポリヌクレオソームについて原子レベルや粗視化したシミュレーションを行い、個々のヌクレオソームのダイナミクスやそれがクロマチンの構造多様性に及ぼすインパクトを調べる。このようなシミュレーション計算を通して、ヒストンバリエーションや化学修飾とクロマチンダイナミクスとの関係を詳細に調べる。一方、領域内連携により、細胞内でのヌクレオソーム動態、ゲノム内での配置など個々のヌクレオソームやポリヌクレオソームの特性との関連を明らかにすることによって、クロマチン動構造の解明を目指す。

2. アウトリーチ活動

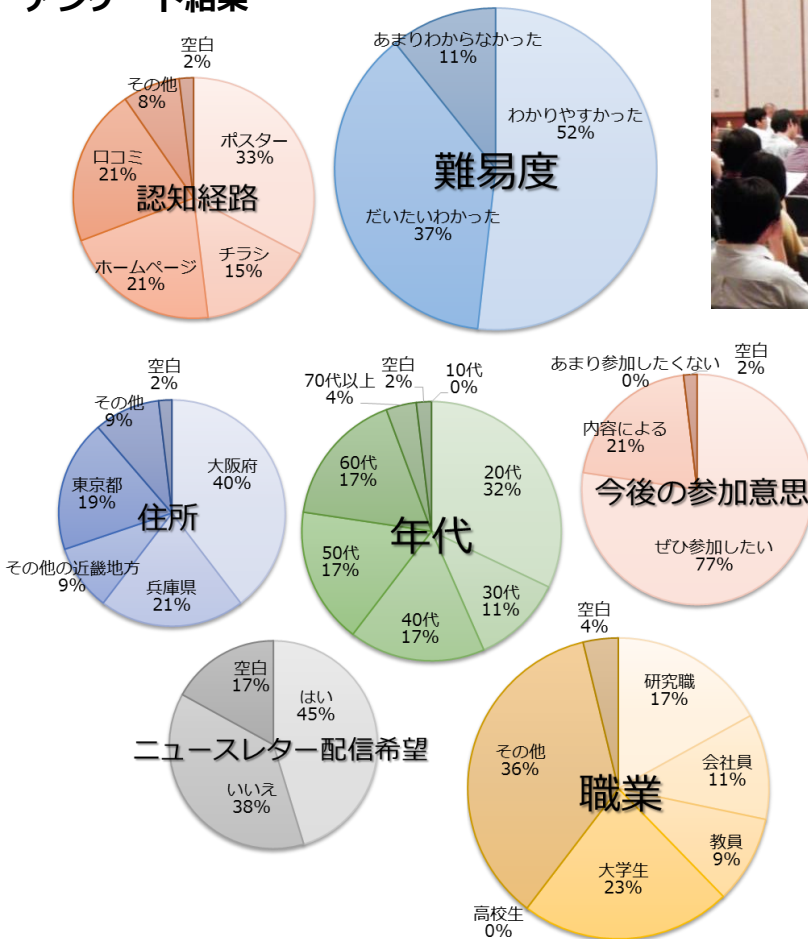
■ 一般公開シンポジウム「DNA をあやつる生物のしくみ」

8月25日、千里ライフサイエンスセンターにおいて、山縣一夫班員、平岡泰「遺伝情報場」領域代表らの企画により開催されました。当日は近畿地方各地で局地的な大雨を記録し、道路の冠水や各路線のダイヤが乱れるなか、およそ120人の市民が参加されました。



“一般公開シンポジウム DNA をあやつる生物のしくみ”では新学術領域「遺伝情報場」、「クロマチン動構造」のメンバー9名が様々な手法・生物を用いたそれぞれの研究テーマについて講演を行いました。第一線の研究者たちによる聴きごたえ充分なものであったのと同時に、公開シンポジウムとして一般の方々にも非常に分かりやすく工夫を凝らし、普段見慣れないスライドや例え話を用いながらの講演が続きました。アンケートの結果からも、その評判の良さが伺えます。通常の学会やミーティングの発表では、ここまで分野外の人々を意識した解説が聞ける機会は滅多にありませんが、私自身にとっても普段見過ごしがちな“分かっているようで、実は理解不十分だったこと”が思いのほか多いということを思い知らされ、大変勉強になりました。また、自分の研究をより広く社会に発信し、そして理解してもらうことがいかに大切かを再認識させられる場でした。講演終了後は別室で懇親会があり、平岡領域代表・胡桃坂領域代表による、まるでネタ合わせしていたかのような挨拶（掛け合い？）で場が大きく盛り上がり、最後は今後の領域のますますの発展を祈って幕を閉じました。（大阪大学・岡正啓）

アンケート結果



▼感想の抜粋：

- ・「場」という考え方は斬新だ（60代医師）
- ・研究をこれだけわかりやすく話すのは素晴らしい（40代）
- ・一般と専門家のつながりを太くすることは国としても有益（20代）
- ・最先端科学に興味があり、勉強できることが嬉しい（60代デザイナー）
- ・最新情報を知ることができ、有意義（40代主婦）
- ・おもしろかった（60代年金受給者）
- ・刺激があって楽しい（60代引退）
- ・もう少しやさしい内容に（20代大学生）

■顕微鏡講習会「ケンピロー先生がやってくる!!」

8月25日、子どもたちに本物の顕微鏡を使って観察することで科学の一端にふれる体験をしてもらうべく、山縣班員が顕微鏡の専門家ケンピロー先生に扮して3台の実体顕微鏡とともに、生駒市桜ヶ丘1学童保育所を訪ねました。まずは顕微鏡でニワトリ、ウズラ、サケ、マウスの卵を見せて、哺乳動物であるわれわれヒトにもタマゴがあることを知ってもらいました。子どもたちはみんな驚いた様子で画面を見つめていました。その後は校庭に出て、各自顕微鏡でみたいものをもってこられました。草花や鉱物、虫など、多彩なサンプルが集まりました。実体顕微鏡で立体的に観察する経験が初めての子どもたちは、夢中でのぞきこんでいました。この中から未来の科学者が誕生するかもしれませんね。（大阪大学・山縣研・堀真由子）



子どもたちは初めて見る本物の実体顕微鏡にくぎ付けでした。（ケンピロー先生）

▼子どもの感想：人間に、自分にも「たまご」があることにビックリした（4年生女子）、だんごむしが大きく見えてすごいと思った（1年男子）、高い顕微鏡に緊張した（複数）、トンボの羽がきれいだった（3年男子）、アップにした虫の顔がこわかった（2年男子）



▼学童指導員の感想：普段の保育ではできない経験を子どもたちにさせてあげることができました。撮りためた写真を見直すと子どもたちの表情はどれもいきいきとしており、子どもたちにとってよい企画であったと感じています。これが契機となり子どもたちの可能性が広がればいいと感じています。小学校の夏休みの作品展を見ましたが、ケンピロー先生でのスケッチを出している子もいたようです。（桜ヶ丘1学童指導員・宮坂裕美、大澤宏志）

3. ミーティング報告



2013年8月19日から23日まで、ハンガリーのデブレツェンで“23th Wilhelm Bernhard Workshop on the cell nucleus”が開催されました。本領域からは木村宏班員、小布施力史班員、原田昌彦班員が口頭発表者として参加し、このうち木村班員はプレナリートークを行いました。また、本領域若手の会からも我々2名が参加し、ヒストンバリエント（口頭発表 日下部）と核内アクチン（ポスター発表 山崎）に関する研究成果を発表しました。

学会のプログラムは基礎研究から応用研究まで設けられており、細胞核に関する最新の知見や、新たなクロマチン構造解析技術、さらに細胞核機能を標的とした創薬に関する研究まで幅広い講演がありました。その中でも印象に残った発表として、骨格タンパクに関する分野で、McNally 博士が変異ラミンへの結合タンパク質をプロテオミクス解析したところ、転写制御タンパク質やヒストンバリエントなどの多くのタンパク質が同定された報告が挙げられます。ラミノパシーの原因であるラミン変異部位の特定は多数報告されており、現在は組織表現型への影響メカニズム解明が課題となっていました。変異ラミンとヒストンバリエントの結合の可能性は、ラミノパシーとクロマチン構造変化との関連の解明に繋がる興味深い報告でした。今回の講演では核内骨格タンパク質に関する発表はあまり多くなかったですが、今後はこのようなエピジェネティクス機構における骨格タンパク質の機能の解明がさらに進展していくことを期待しております。また我々がインスピレーションを受けたのはクロマチン構造の分野で、Groth 博士のグループによるエピゲノム維持機構に関する発表です。その講演では各エピゲノム修飾が DNA 複製後のどの段階で維持されるかを Nascent / Mature Chromatin を単離することで解析していました。クロマチン機能ドメインはそれぞれのエピゲノム修飾がクロストークすることで形成されますが、その形成順序の解明モデルとして経時的アプローチを用いることは非常に斬新でした。我々はヒストンバリエントがクロマチン機能ドメイン形成にどのように関与するかを明らかにしようとしており、今後の分子機能の解明モデルとして彼らの実験方法を応用し、その成果をこの国際学会で再び発表できるよう頑張ろうと考えております。



今回は私たちにとって国際学会への初参加でしたが、口頭発表、ポスター発表ともに、幸いにも多くの研究者の方々に興味を持っていただき、さらに研究に対する貴重なご助言や新しい共同研究の機会を得ることができ、非常に充実した5日間を過ごすことが出来ました。（東北大・原田研・日下部将之、山崎祥他）

4. 成果紹介

① 木村宏班員らの論文が Scientific Reports 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。

Genetically encoded system to track histone modification *in vivo*.

Sato Y, Mukai M, Ueda J, Muraki M, Stasevich TJ, Horikoshi N, Kujirai T, Kita H, Kimura T, Hira S, Okada Y, Hayashi-Takanaka Y, Obuse C, Kurumizaka H, Kawahara A, Yamagata K, Nozaki N, *Kimura H.

Sci Rep. 2013 Aug 14;3:2436

<http://www.nature.com/srep/2013/130814/srep02436/full/srep02436.html>

ヒストン翻訳後修飾は、細胞世代を通して安定に伝達されると同時に、細胞の分化や刺激により動的に変化する。この性質からヒストン修飾は細胞分化過程の基盤として重要な役割を果たすと考えられている。しか

し生体内で継時的にヒストン修飾を観察する手段がないため、任意の細胞における修飾状態の変化と細胞機能の表現型との関連性は、未だ不明な点が多い。我々は、ヒストン修飾特異的抗体由来の一本鎖可変領域をEGFPと融合させた、'Modification specific intracellular antibody; Mintbody'を細胞内に発現させ、生体内のヒストン H3 Lys9 アセチル化 (H3K9ac) 動態を検出することに成功した。

H3K9ac-mintbody をヒト培養細胞に発現させると、核内でユークロマチン領域に局在し、また、脱アセチル化酵素阻害剤添加後のアセチル化レベルの上昇を FRAP および核/細胞質シグナル比によって観察することができた。さらに H3K9ac-mintbody を発現するゼブラフィッシュとショウジョウバエを作製し、生体内ヒストン修飾動態を観察した。ショウジョウバエ胚発生初期においては、母性/胚性転移 (MZT) に伴う核アセチル化レベルの上昇を観察することができた。Mintbody 発現ショウジョウバエおよびゼブラフィッシュが正常に発生したことから、観察可能なレベルの Mintbody の発現は、少なくとも発生・分化には影響を及ぼさないことがわかった。本研究により開発したヒストン修飾特異的 Mintbody は、遺伝子導入が可能なるすべてのモデル生物に応用することができるため、発生・分化に伴うヒストン修飾動態の解明やエピゲノムを標的とした創薬開発等への幅広い貢献が期待できる。



② 胡桃坂仁志領域代表らの論文が、FEBS Open Bio 誌に掲載されました。

Contribution of histone N-terminal tails to the structure and stability of nucleosomes.

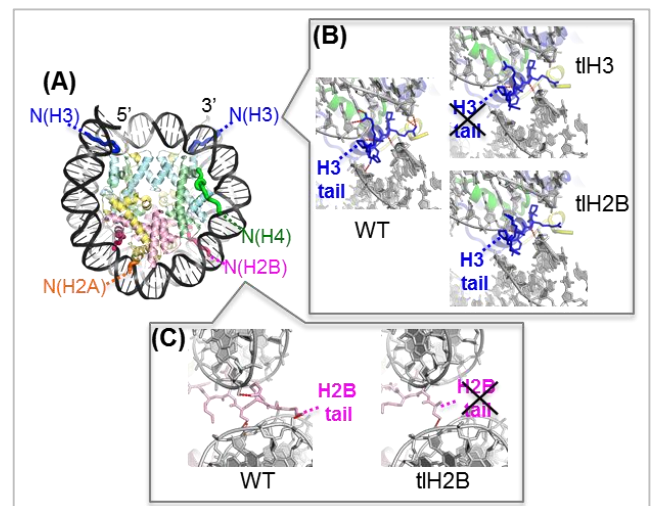
Iwasaki W, Miya Y, Horikoshi N, Osakabe A, Taguchi H, Tachiwana H, Shibata T, Kagawa W, *Kurumizaka H.

FEBS Open Bio 2013;3:363-369

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S221154631300048X>

クロマチンの基本単位であるヌクレオソームコア粒子は、コアヒストン H2A、H2B、H3、H4 各 2 分子からなるヒストン 8 量体の周囲に DNA が巻き付いた構造体である。4 種のコアヒストンはいずれも、ヒストンフォールドと呼ばれる共通の構造を持つ中央部と、二次構造を持たない N、C 末端のテールからなる。柔軟性に富み、塩基性残基を多く含む N 末端テール領域は、ヌクレオソームコアから突出してヌクレオソーム DNA や隣接したヌクレオソーム上の酸性パッチと相互作用する (図(A))。それにより、テール領域がヌクレオソームの構造の安定化および高次クロマチン構造の形成に寄与していることが以前から知られていた。また、テール領域は、アセチル化、メチル化、リン酸化、ユビキチン化などの翻訳後修飾を受けてクロマチンの構造を変換させ、転写・複製・組換え・修復などを制御する重要な役割を担う。本研究は、ヌクレオソームの構造安定性に対する各ヒストンのテール領域の役割を、原子レベルで明らかにすることを目的とした。

4 種のコアヒストンのうち、1 種の N 末端テールを欠失させた tailless ヌクレオソームを各々作製し (tH2A, tH2B, tH3, tH4)、結晶構造解析を行った。tH2A, tH4 ヌクレオソームについては野生型と比べて大きな変化は見られなかった。一方、tH3 ヌクレオソームにおいては、H3 N 末端テール領域の欠失により、残存している H3 N 末端領域の運動性が增大し、DNA の entry/exit 領域との相互作用が不安定化されることが分かった (図(B))。また、tH2B ヌクレオソームにおいては、広範囲に渡ってヒストン-DNA 間の相互作用に変化が見られた。H2B N 末端領域は、野生型ヌクレオソームにおいては、ヒス



トン8量体に巻き付いた1周目と2周目のDNAの間から外へ向かって突出している。H2B N末端テールを欠失させると、残存しているH2B N末端部と1、2周目のDNAの相互作用が共に不安定化されることが明らかになった(図(C))。さらに、立体構造上で遠方に位置するDNAのentry/exit領域-H3 N末端領域の相互作用も、H2Bテール欠失によって不安定化されることが明らかになった(図(B))。以上の結晶構造解析の結果は、熱安定性実験の結果とも一致した。熱安定性は、疎水性部位に特異的に結合する蛍光色素を用いて、温度上昇と共に進行する疎水性部位の露出(すなわち会合体の崩壊、構成成分の変性)を観測することにより測定した。野生型ヌクレオソームでは、温度の上昇に伴う蛍光強度増大曲線に2相の変化が見られ、最初の変化はH2A/H2B 2量体の離脱、2番目の変化はH3/H4 4量体の離脱・全体の崩壊/変性と考えられた。4種のテール欠失ヌクレオソームにおいても同様の2相の変化が見られたが、tH2B, tH3ヌクレオソームにおいては、最初のH2A/H2B 2量体の脱離と目される変化が顕著に低温度で起こることが判明した。以上より、H2B, H3 N末端テールは、ヒストン-DNA相互作用を維持し、ヌクレオソーム構造の安定化に重要であることが明らかになった。

5. 今後の予定

第22回 DNA複製・組換え・修復ワークショップ

日時: 2013年11月20日(水) 13:30 ~ 22日(金) 昼頃(予定)

会場: ホテルニュー水戸屋 宮城県仙台市太白区秋保町湯元薬師 102

主催: 第22回 DNA複製・組換え・修復ワークショップ 運営委員会

岩崎博史(東京工業大)、和賀祥(日本女子大)、菱田卓(学習院大)

共催: 文部科学省新学術領域研究「染色体適応」「ゲノム普遍的制御」「非コードDNA」「クロマチン動構造」

<http://www-cc.gakushuin.ac.jp/~20139165>

第31回 染色体ワークショップ・第12回 核ダイナミクス研究会

日時: 2013年11月25日(月) 14時頃 ~ 27日(水) 13時頃(予定)

会場: ホテルおかだ 神奈川県足柄下郡箱根町湯本茶屋 191

主催: 第31回 染色体ワークショップ・第12回核ダイナミクス研究会

合同開催事務局 今本尚子(理研)、吉村成弘(京大)

後援: 文部科学省新学術領域研究「クロマチン動構造」他

申し込み・問い合わせ先: [chromosomenucleus.goudou\[a\]gmail.com](mailto:chromosomenucleus.goudou[a]gmail.com)

([a]を@に変えてください)

新学術領域「クロマチン動構造」若手の会 第1回 シンポジウム

日時: 2013年12月7日(土) 13時~ 18時

会場: 早稲田大学先端生命科学センター(TWIns)

主催: 文部科学省新学術領域研究「クロマチン動構造」若手の会

<http://nucleosome.kyushu-u.ac.jp/workshop/20131207.html>

新学術領域「クロマチン動構造」若手の会 第1回 シンポジウム

**海外で活躍する若手研究者が語る
最先端クロマチン研究**

2013年12月7日(土) 13:00~18:00(12:30 open)
早稲田大学先端生命科学センター(TWIns)

Keynote Address:
"Gene regulation in cellular senescence"
成田 匡志
Cancer Research UK

Speakers:
Emory Univ. · Xiaodong Cheng lab.
橋本 秀春 "Structural studies of DNA demethylation-related glycosylases, NBD4 glycosylase, and TDG glycosylase"
Northwestern Univ. · Robert Goldman lab.
志見 剛 "The nuclear lamin networks: Defining the chromatin landscape"
Stanford Univ. · Roger Kornberg lab.
永井 成樹 "Transcribing native chromatin *in vitro*"
Harvard Univ. · Yi Zhang lab.
井上 梓 "Nucleosome assembly is required for nuclear pore complex assembly"
Cambridge Univ. · John Gindoff lab.
宮本 圭 "Transcriptional reprogramming of mammalian nuclei by maternal factors"
Princeton Univ. · Jason Lieb lab.
池上 浩太 "Unexpected lamin A/C interactions with active genes are altered in cells from progeria patients"
Waseda Univ. · Hirotoshi Kuramizaka lab.
佐藤 浩一 "DNA repair factor FANCD2 is a histone chaperone"
Kyushu Univ. · Yasuyuki Ohkawa lab.
原田 哲仁 "The lineage potential of skeletal muscle is dictated by histone H3 variants"

Access: 都営地下鉄大江戸線 若松河原駅より徒歩5分
都営地下鉄新宿線 曙橋より徒歩8分

Organizers: 佐藤 浩一(早稲田大学)、須藤 仁志(早稲田大学)、木村 宏(大阪大学)

事前の参加登録は必要ありません。(参加費無料)
お問い合わせ: koichi-sato@aoni.waseda.jp
<http://nucleosome.kyushu-u.ac.jp/workshop.html>

編集後記: ようやく暑さからは解放されましたが、季節の変わり目で不安定な天候が続いています。学会や科研費申請のシーズンに突入し、忙しい時期を迎えますので、皆様も体調を崩さないよう気をつけてください。最近、学会やシンポジウムの数が多く、若干食傷気味になってしまっていますが、そのような中で一般向け公開シンポジウムはとても良かったと思います。班員の方々からも継続して行いたいとの声が多く聞こえています。今後もアウトリーチ活動を積極的に行い、研究の成果を国民に還元していくことが大事だと実感しました。HiKi