

1. 研究紹介：【情報通信研究機構・原口、大阪大学・浅川】、【東工大・徳永】
2. アウトリーチ活動 ① 「染色体と細胞核のダイナミクス」(化学同人) 出版
 ② 日経産業新聞に記事(テクノトレンド) 掲載
3. ミーティング報告 ① 2013 Mechanisms of Nuclear Transport Meeting
 ② クロマチン動構造若手の会 第1回 シンポジウム
4. 成果紹介：胡桃坂と木村の共同研究の成果が Scientific Reports 誌に掲載されました。
5. 今後の予定

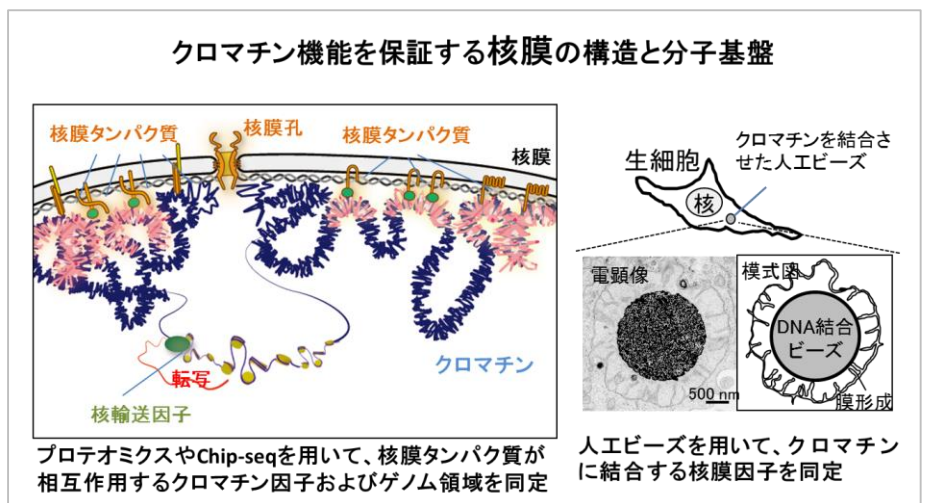
1. 研究紹介

【計画研究オ クロマチン機能を保証する核膜の構造と分子基盤】

研究代表者：原口 徳子 (情報通信研究機構・上席研究員)

研究分担者：浅川 東彦 (大阪大学生命機能研究科・助教)

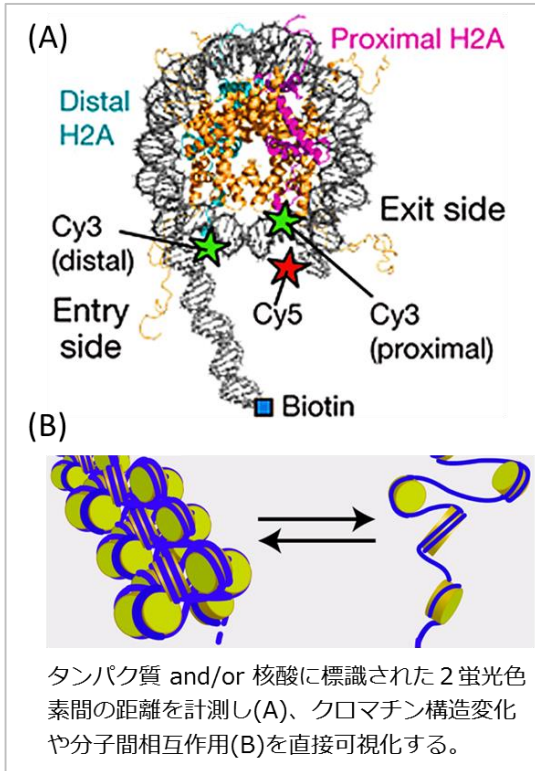
クロマチンが正常に機能するためには、核構造が非常に重要である。その中でも、核膜は、核膜タンパク質の働きによって、特殊なクロマチン構造(ピンク色で示した染色体)を核膜付近にアセンブリーさせ、転写のオンオフを時空間的に制御すると考えられている。その仕組みを明らかにするために、まず、特定の核膜タンパク質が相互作用するゲノム領域を、プロテオミクスやChIP-seq、イメージングなどの方法を駆使して



特定し、その特徴を抽出する。このような従来法に加えて、新しい実験系を用いて解析を行う。すなわち、人工ビーズに DNA や核膜形成に重要と予想されるクロマチン結合因子、あるいは in vitro 再構成させてヌクレオソームを結合させた後、生きた細胞内に導入し、ビーズ周辺で構築される人工的な核構造(右図の電顕像)を調べることにより、核膜タンパク質とクロマチンとの1対1の相互作用を、生きた細胞内で明らかにする。また、胚発生やガン細胞で高頻度に見られる微小核について、核膜の有無や、核膜構成成分、内包するクロマチン構造、DNA複製・修復の有無などを検討し、クロマチン機能を保証する核膜因子を明らかにする。特に、核膜病(筋ジストロフィーや早老症など)の原因として同定されている核膜タンパク質(エメリン、ラミン、BAF、SUN/KASHタンパク質、LEMドメインタンパク質など)が核膜上に正常な構造を構築するのに必要な条件を、クロマチンと核膜の両者から検討する。核膜孔複合体やLEMドメインタンパク質など進化的に保存されている核膜タンパク質に関しては、遺伝学的な手法に優れた分裂酵母を用いて、クロマチン構造と機能への影響を検討する。これらの研究を通して、正常なクロマチン機能を保証する核膜構造とその分子基盤を明らかにすることを旨とする。

【計画研究力 1分子 *in vivo* イメージング超解像ナノ解析によるクロマチン動作原理解明】

研究代表者：徳永 万喜洋（東京工業大学 大学院生命理工学研究科・教授）



DNA 生物学の重要な命題「動的クロマチン構造の実体」解明に新たな展開を計ることを目的として、クロマチンの構造変化と分子間相互作用を、直接可視化・計測する。光学顕微鏡を用いた1分子研究と、新たな世界的潮流である超解像顕微鏡法とを組合せ発展させる。(1) 多色1分子蛍光顕微鏡システムと超解像顕微鏡法を融合した顕微鏡を開発構築する。(2) 多色1分子画像の超解像ナノ解析法と、1分子 FRET 法(蛍光共鳴エネルギー移動, Fluorescence resonance energy transfer) とを用い、相互作用を定量計測する。(3) ヒストンや DNA を蛍光標識し、クロマチン構造変化・相互作用変化を直接可視化する。胡桃坂班、木村班、原口班との共同研究により、*in vitro* および細胞レベル *in vivo* で蛍光標識再構成クロマチンを用いて行う。(4) 以上の成果を、多種分子・時間・三次元空間の関数としての定量化を進める。(5) 領域内外共同研究を通して、ヒストン修飾状態と転写制御、新たな構成要素の動態、核内複合体ダイナミクスへと展開を計る。

2. アウトリーチ活動

■「染色体と細胞核のダイナミクス」(化学同人) 2013年11月30日出版

この本は、「DNAがどのようにして細胞の働きを正しく操るのか?」、あるいは「細胞はどのようにDNAを操り遺伝情報を適切に引き出すのか?」という古くて新しい問題に対して、現在明らかになっている事実を整理し、最新の知見を初学者に伝えることを目指したものです。著者は、その分野の最前線で活躍する先生にお願いしました。本新学術領域「クロマチン動構造」からは、胡桃坂仁志領域代表を始めとして、計画班員の木村宏、原口徳子、斉藤典子、原田昌彦が執筆を行っています。編集は、本領域総括班員の平岡泰と計画班員の原口徳子が行いました。

内容としては、遺伝子やヌクレオソームといった基本的なクロマチン構造から、セントロメアやテロメア、ヘテロクロマチンといったやや複雑な染色体構造や、染色体機能に影響を与える因子・構造として、コンデンシン、染色体空間配置、核膜、核内ボディー、核骨格の問題を取りあげました。また、高次生命現象として減数分裂と発生・分化を取りあげ解説しています。

本書は、大学生や大学院生にも理解できるようにするため、阪大の4回生数名に読んでもらい、彼らが理解できるまで修正を行いました。彼らの協力のおかげで、専門性を維持しながらも初学者に読みやすいものとなっていると思います。染色体や細胞核の教科書として、いつも傍らに置いて読んで貰えることを願っています。

(情報通信研究機構・原口 徳子)



■日経産業新聞に本領域の研究が紹介されました

胡桃坂領域代表と木村班員の研究が、日経産業新聞の記事(テクノトレンド)に紹介されました(11月29日)。

3. ミーティング報告

■2013 Mechanisms of Nuclear Transport Meeting

2013年10月18日から10月23日まで、アメリカ東海岸にある Marine Biological Laboratory (海洋生物学研究所) で“2013 Mechanisms of Nuclear Transport Meeting” (オーガナイザー: Thomas Schwartz and Karsten Weis) が開催されました。本領域からは、原口徳子班員が参加しました。本会議は、細胞核への物質輸送の仕組みを研究する研究者が世界中から集まり、2年に一度開催される国際会議です。1997年に最初に開かれて以来、



各年毎に継続されています。今年は14回目となるはずなのですが、第何回と呼ばれていない「有志の会」的な会議です。今回は、ボストンから車で2時間ほど行った MBL で行われました。MBL は、GFP の発見でノーベル賞を受賞された下村先生がクラゲをたくさん捕まえていたということで“有名な”研究所であり、イメージングの分野ではビデオマイクروسコピーの開発で有名な Shinya Inoue (井上信也) 先生が長年研究されていた研究所でもあります。海洋生物学やイメージングの研究者にとっては、まさに聖地のような研究所です。筆者は、今回、初めてこの「聖地」に足を踏み入れる機会を頂き、ワクワクしました。

参加者は約90名で、そのほとんどが研究室を主宰するPI(主要研究者)です。18日に夜のセッションから始まり、23日の朝まで、16のセッションが開かれ、66演題の口頭発表が行われました。アメリカからはもちろんのこと、カナダ、イギリス、フランス、ドイツ、イタリア、スペイン、スイス、オーストリア、ベルギー、スウェーデン、日本、中国など、世界各国から、この分野の第一線で活躍する研究者が参加しました。日本からは、筆者を含めて4名が参加しました。この会議の特徴は、参加者が未発表データを含めた最新の成果を発表することです。そのためアブストラクトは求められません。ほとんどの発表は未発表の内容であり、「最近出た論文で読んだなあ」というような内容はほとんどありません。だから、個別の発表の内容の詳細に紹介することはしませんが、大まかにいうと、核移行のメカニズムに言及する講演はかなり少数派で、核膜孔の構造や形成メカニズムに関する発表や、ヌクレオポリンの機能に関する発表が大半を占めました。また、核膜タンパク質の機能や染色体との相互作用が果たす役割に関する発表もかなりありました。中でも核ラミナの主要成分であるラミンの機能に関する発表は2つのセッションを構成するほど行われました。核膜は、ラミンの変異や核膜タンパク質の変異によって筋ジストロフィーやプロジェリア早老症、心筋症など、さまざまな遺伝病が起こることが知られています。そのため、欧米では関心が高く、基礎研究から応用研究までさまざまな研究が行われています。

学問的には、面白い発表が次から次へと続く魅力的なミーティングですが、それに加え、会期中の半日を使って行われたレクリエーションも興味深いものでした。参加者は、バードウォッチングとホエールウォッチングのどちらかを選ぶことができます。このような体験を通して、研究者同士が個人レベルで親しくなり、より深くサイエンスの議論をすることができるようになります。日本のミーティングでは、このような機会が与えられることは皆無に近く、ゆったりとした環境でサイエンスの議論を深めることができる環境は、とても素晴らしいものでした。



このミーティングで面白かったもう一つの体験は、次のミーティングの決め方です。この会議は、基本的にはアメリカとヨーロッパで交互に開くというルールのようなのですが、前はイスラエルで開催され、今回はアメリカでした。それで、次は、ヨーロッパ方面で行われるまわりとなるのですが、その選択は候補となる国(都市)が立候補する形で進められました。オリンピック招致のように、プレゼンをやって、みんなで気に入ったところに拳手をして決めるのです。立候補は、イギリス(エジンバラ)、ドイツ(ハイデルベルグ)、

スペイン（指定なし）、イスラエル（指定なし）の4カ国（4都市）でした。最初の“投票”で、イギリスとドイツが落選し、スペインとイスラエルが決戦に進み、次に決戦でスペインが圧倒的多数で選ばれて、次の開催地と決まりました。その様子は、まるで五輪の招致活動のようで、本当にみんなで作る会議なのだと実感しました。実に面白かったです。（情報通信研究機構・原口 徳子）

■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

2013年12月7日に早稲田大学先端生命医科学センター(TWIns)にて、本領域の若手の会主催のシンポジウム「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」が開催されました。若手の会の会員は博士研究員や博士課程学生で構成されており、今後海外留学を視野に入れている人が大勢います。若手の会発足後、第1回目となる本シンポジウムでは、海外の若手研究者として、海外の著名な研究室に所属する6名の博士研究員の方々と、Cancer Research UKの成田匡志先生を招いて、世界最先端の知見や、最新の海外ラボ事情を語っていただきました。さらに若手の会から九州大（大川研）の原田哲仁会員、早稲田大（胡桃坂研）の佐藤浩一会員が発表しました。



会場の早稲田大学先端生命医科学センター

発表では各ラボが誇るオリジナルの手法や ChIP-seq、RNA-seq などの最新技術を駆使した、未発表データを含む最新のデータが次々に披露され、聴衆を魅了しました。質疑応答では質問者が後を絶たず、白熱した議論が展開されていました。特に、若手の方が活発に質問をしていた点が若手の会のシンポジウムならではの、演者の皆さんも若手からの質問にも丁寧に答えて下さり、普段の学会にはないフランクな雰囲気がありました。以下では発表内容について簡単に紹介します。

ご承知の通り、真核生物のゲノム DNA はクロマチンを形成し、DNA 上で起こる転写や修復といったイベントはヌクレオソームにコードされたエピジェネティックなマークや、さまざまな因子によって複雑に制御されています。しかし、クロマチン上で起こるイベントの制御機構には未だ未解明な点が多く残されています。スタンフォード大（Roger Kornberg Lab.）の永井成樹博士は、出芽酵母のゲノム DNA から精製したクロマチンと精製タンパク質を用いて、試験管内でクロマチンからの転写を再構成する系を紹介し、ネイティブなクロマチン上で起こる転写制御機構の詳細解析に新たな可能性を示しました。ハーバード大（Yi Zhang Lab.）の井上梓博士は、マウス受精卵の雄性前核においてヌクレオソームを欠損した核を作製する革新的な手法を確立し、ヌクレオソームの欠損した核では核膜孔が形成されないという衝撃的なデータを報告しました。ケンブリッジ大（John Gurdon Lab.）の宮本圭博士は、アフリカツメガエルの卵にマウスの

細胞核を移植して初期化した後に移植核のゲノム解析を ChIP-seq 法により行う技術などを確立し、リンカーヒストン B4 とクロマチンに取り込まれることと、核内でアクチンタンパク質が重合することがリプログラミング過程に必須であること発表しました。早稲田大の佐藤会員は、DNA 損傷修復過程で働く FANCD2 がヒストンシャペロンであることを発見し、FANCD2 依存的なクロマチンリモデリングが DNA クロスリンクの修復に重要であることを報告しました。

細胞の分化や環境応答に伴う転写状態の変化は、ゲノム上の特定の領域における DNA のメチル化やヒストンの翻訳後修飾といったエピジェネティックなコードを可塑的に変化させることで実現されており、エピジェネティックコードの制御機構の解明は細胞における動的な遺伝子発現制御の理解に必須です。エモリー大（Xiaodong Cheng Lab.）の橋本秀春博士は、結晶構造解析によって、DNA の脱メチル化経路で働く MBD4 と TDG という2つのタンパク質による基質 DNA の認識機構を解析し、DNA の脱メチル化の機構を解明しました。さらに、DNA 脱メチル化経路の中間産物に対する結合が増強した変異体タンパクを用い



(上) 宮本さんの発表の様子。(下) 質疑・応答の様子。質問者が行列を作っている。

て、脱メチル化反応中間体のゲノム上の局在解析への応用の可能性をも示しました。九州大の原田会員は、筋分化において筋特異的遺伝子のプロモーター領域にヒストンバリエント H3.3 が取り込まれることで、転写を on にも off にもできるバイバレントなヒストン修飾状態が誘起され、分化が可能な状態になることを報告しました。

DNA の転写制御に重要な、クロマチンの高次構造や、染色体の核内配置は核膜と密接に関係しています。ノースウェスタン大 (Robert Goldman Lab.) の志見剛博士は、核ラミナ構造とクロマチンへの影響および、細胞老化における核ラミンの関与について研究されております。今回は、核ラミナを構成するラミン B1 のロックダウンで細胞核の球状構造が破綻して細胞核の一部が飛び出したように変形する事を見だし、飛び出した領域に存在する染色体はユークロマチン状態にあるにも関わらず、転写が活性化されないという興味深い現象などを報告しました。プリンストン大 (Jason Lieb Lab.) の池上浩太博士は、C. elegans において snoRNA をコードする領域上に核膜孔タンパク質が結合し、snoRNA 転写の大部分は核膜孔の中で行われているという仮説を披露し、聴衆を驚かせました。また、ChIP-seq を用いたゲノム解析から、ゲノム DNA 上のラミンの局在が、早老症の患者では変化するというデータを発表しました。

最後に特別講演の成田匡志先生には、細胞老化やがんなどの様々なストレス応答において中心的な役割をはたす p53 による遺伝子発現の制御についてお話いただき、細胞老化やがん細胞など、表現型の異なる細胞については p53 のゲノム DNA 上の局在も大きく異なり、これまでに報告されていた p53 のターゲット遺伝子は限られた細胞の表現型における p53 の部分的な働きしかみていないという結果を報告していただきました。

発表後には懇親会が催され、発表で聞ききれなかった質問や、海外のラボ事情について先輩研究者とリラックスして懇談する事が出来ました。本ワークショップを通して、海外で成果を挙げている先輩方と交流できた事は、私たち国内の若手研究者にとって非常に刺激的で、自分の研究スタイルや今後の研究者人生を考える上で重要な指針を得る事が出来ました。

(早稲田大学・胡桃坂研・有村 泰宏)



4. 成果紹介

胡桃坂仁志領域代表と木村宏班員らの領域内共同研究による論文が、Scientific Reports 誌に掲載されました。この成果は、12月17日付化学工業日報に紹介されました。

Structural basis of a nucleosome containing histone H2A.B/H2A.Bbd that transiently associates with reorganized chromatin.

Arimura Y., *Kimura H., Oda T., Sato K., Osakabe A., Tachiwana H., Sato Y., Kinugasa Y., Ikura T., Sugiyama M., Sato M., *Kurumizaka H.

Sci Rep. 2013 Dec 16;3:3510.

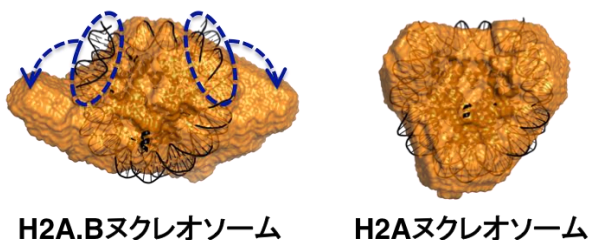
<http://www.nature.com/srep/2013/131216/srep03510/full/srep03510.html>

真核生物のゲノム DNA は、ヒストン H2A、H2B、H3、H4 各 2 分子ずつからなるヒストン 8 量体の周りに巻き付いて、クロマチンの基本単位であるヌクレオソームを形成している。H4 以外のヒストンにはアミノ酸配列の異なる“バリエント”が存在しており、特定のクロマチン領域における主要型ヒストンからのバリエントへの交換は、クロマチンのエピジェネティックな状態の切り替えに寄与することが分かっている。我々は哺乳類特異的に存在し、精巣において高い発現が認められるヒストン H2A.B (別名: H2A.Bbd) バリエントが、DNA 複製領域および DNA 損傷領域に一過的に集積することを細胞生物学的解析から明らかにした (図 A、B)。H2A.B が転写される領域に取り込まれることはすでに分かっていた。これらの知見を合わせて、H2A.B はヌクレオソームの再編成が活発なクロマチン領域に一過性に取り込まれると考えられ

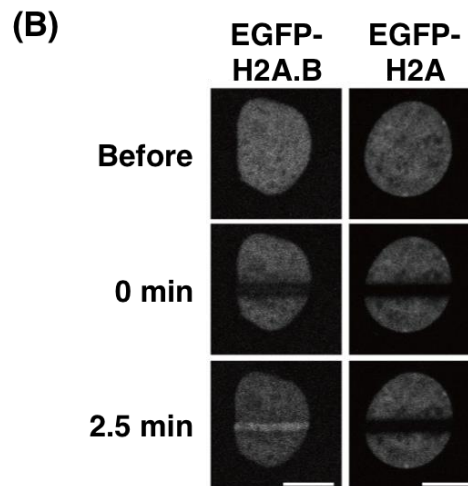
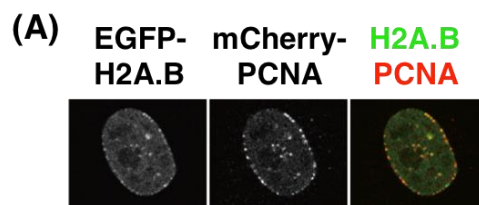
た。これまでに DNA の転写・複製・修復のすべての過程で働くヒストンバリエントは例がなく、H2A.B がこれらのクロマチン領域に取り込まれる機構と、これらの領域での H2A.B の機能メカニズムが次の疑問となった。

生化学的解析によって、主要型の H2A を含んだ通常のヒストン 8 量体ではヌクレオソームを形成することのできない 124 塩基対以下の短い DNA を用いても、H2A.B を含んだヒストン 8 量体ではヌクレオソームが形成されることを明らかにした。さらに X 線小角散乱解析を用いて溶液中での構造解析を行い、H2A.B ヌクレオソームが、H2A ヌクレオソームよりも DNA が広がった“open”なヌクレオソーム構造を形成することを明らかにした (図 C)。H2A.B の取り込みに特異的なヒストンシャペロンやクロマチンリモデリング因子が関与するのか、さらに H2A.B が作り出す“open”なクロマチン構造が転写・複製・修復にどのように関与するのかといった点を今後明らかにしていく必要がある。

(C)



(C) H2A.BヌクレオソームはDNAがひろがった“open”なヌクレオソーム構造を形成していた。



(A) H2A.BがDNA複製複合体のマーカであるPCNAと共局在している。

(B) レーザーによるDNA損傷導入領域にH2A.Bが集積している。

5. 今後の予定

小布施班員、木村班員が班友として参加する新学術領域「ゲノム普遍的制御」(花岡文雄領域代表)の国際シンポジウム「Replication, repair and transcription; coupling mechanisms and chromatin dynamics for genome integrity」(2014年2月4-5日、京都大学百周年時計台記念館1階 百周年記念ホール)が開催されます。

詳しくは、こちらをご覧ください。

<http://www.dnarepair.jp/english/conference2014/>

International Conference, Kyoto, 2014

Replication, repair and transcription; coupling mechanisms and chromatin dynamics for genome integrity

F2014 E B 4-5
Clock Tower Centennial Hall, Kyoto University

Confirmed Speakers

Dr. Haico van Attikum (Leiden University, The Netherlands)	Dr. Leon Mullenders (Leiden University, The Netherlands)
Dr. Jean-Marc Egly (IGBMC, France)	Dr. Irina Solovoi (LMU Munich, Germany)
Dr. Thomas Helleday (Karolinska Institutet, Sweden)	Dr. Toshi Tsukiyama (Fred Hutchinson, USA)
Dr. Tom Misteli (NCI, USA)	Dr. Wei Yang (NIDDK, USA)

We cordially announce the international conference entitled “Coupling of replication, repair and transcription, and their common mechanism of chromatin remodeling”. The conference will be held at the Centennial Hall, Kyoto University, in Kyoto, Japan. The 2-day conference will begin in the afternoon on February 4th (Tue.), 2014, and conclude at late afternoon on February 5th (Wed.), 2014.

<http://www.dnarepair.jp/english/conference2014/>

ORGANIZERS:
Fumio Hanaoka
Akira Yasui
Kiyoi Tanaka
Tsuyoshi Ikura
Kanji Furuya

Supported By:
Grant-in-Aid for Scientific Research on Innovative Areas
“Coupling of Repair, Replication and Transcription on Chromatin”

Access: From JR Kyoto Station: Bus no.206 (anti-clockwise)
From Hatakey Kawaramachi St: Bus no.201 (anti-clockwise).
Bus stop at Kyodai Saemon-mae

The official language in this conference is English. Participants are welcome. For details, please contact: genome_sympo@house.rbc.kyoto-u.ac.jp

編集後記: 今年の本領域発足にあたり、平年より一層めまぐるしく過ぎて行きました。皆様方には大変お世話になり、領域の研究も成果がではじめています。来年も引き続きご指導・ご鞭撻のほどよろしくお願ひします。良いお年をお迎へください。

HiKi