

# クロマチン動構造

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

## News Letter

No.  
8

2014  
23<sup>rd</sup> Jun

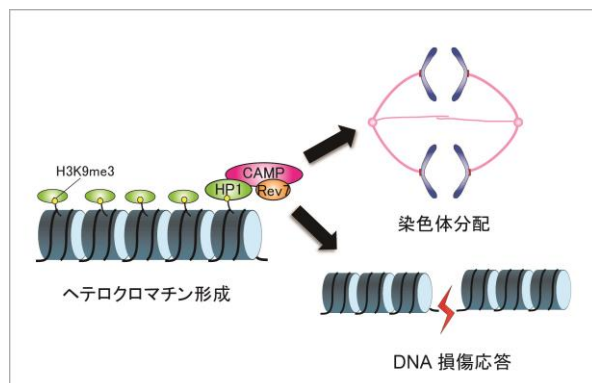
1. 公募班の研究紹介: 東北大学・田中 耕三、群馬大学・滝沢 琢己、東京大学・小穴 英廣
2. アウトリーチ活動: 「クロマチン動構造と創薬」セミナー
3. 学会報告: EMBO Workshop “Histone variants”
4. 成果紹介: ①胡桃坂領域代表らの領域内共同研究による論文が、Biophysical Journal 誌に掲載されました。  
②山縣班員らの領域内共同研究による論文が、Stem Cell Reports 誌に掲載されました。
5. 今後の予定

## 1. 公募班の研究紹介

### 【ヘテロクロマチン結合複合体によるゲノム安定性の動的制御】

研究代表者：田中 耕三（東北大学 加齢医学研究所）

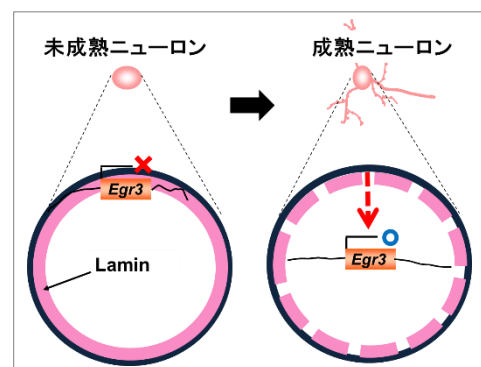
ヘテロクロマチン形成はクロマチン動構造制御の重要な一翼を担っている。これに関与する HP1 (heterochromatin protein 1) は遺伝子発現の制御だけでなく、DNA 損傷応答や染色体分配にも関与することが知られており、ゲノムを足場にした種々の機構を動的に制御していると考えられる。われわれが DNA 損傷応答に関連する Rev7 と結合する分子として同定した CAMP (C13orf8) は、染色体分配に必須の役割を果たしている (EMBO J 2011)。興味深いことに Rev7 と CAMP は、HP1 と共に複合体を形成し、これはヘテロクロマチン領域のマーカであるトリメチル化されたヒストン H3 の 9 番目のリジンに結合する主要な複合体であることが知られている。そこで本研究では、クロマチン構造変化と DNA 損傷応答、染色体分配の関連について解析し、CAMP, REV7, HP1 からなる複合体がこれらの機能を統合している可能性について検討する。



### 【ニューロンにおける細胞核構造と遺伝子発現における核ラミナの意義】

研究代表者：滝沢琢己（群馬大学 医学系研究科）

遺伝子の発現制御には、転写因子の活性化に加えて、エピジェネティクスなどのクロマチン修飾が大きな役割を果たしている。近年、これに加えて遺伝子座の空間配置も重要であることがわかってきている。我々はこれまで、クロマチン制御や遺伝子座の空間配置という観点から神経幹細胞からのアストロサイト分化の機構を検討してきた。さらに、当領域の前身である「遺伝情報場」では、細胞分裂を経ずに劇的に形態や機能を変化させるニューロンの成熟過程に着目し、マウス染色体 14 番の Egr3 遺伝子を中心とした領域に成熟

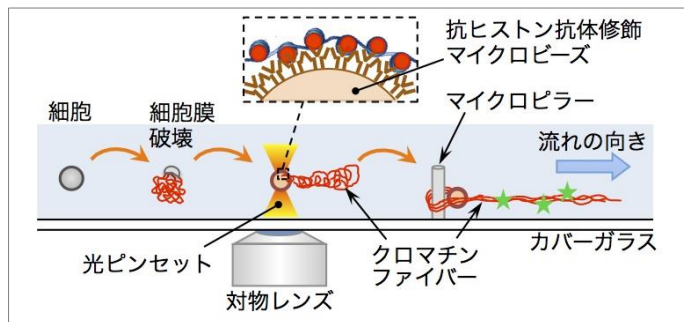


依存的に発現が増加する遺伝子が集簇していること、およびその領域が成熟に伴い核膜周辺から内側へと位置を変えることを明らかにしてきた。一方、成熟ニューロンは機能的な LaminB を欠くことを発見した。本研究班では、ニューロン成熟過程における核ラミナの分子構成の変化とそれに伴う機能変化が、遺伝子座の核内配置や、核膜周辺に配置する遺伝子の発現制御に重要な役割を有しているのではないかと仮説を立て、それを検証することで、新規な観点からニューロンの機能を明らかにしたいと考えています。

## 【マイクロ流体デバイスを用いたゲノムサイズクロマチンの高次構造変化実時間観察】

研究代表者：小穴 英廣（東京大学 工学系研究科）

「顕微鏡下で、狙った1個の細胞からクロマチンファイバーを断片化させずに取り出し、その場でクロマチンファイバー高次構造変化やクロマチンファイバーとタンパク質との相互作用の様子を直接観察する」という単分子レベル生化学実験は、ライフサイエンス研究分野において、非常に有用な研究手段のひとつとなることが期待される。本研究課題においては、上記実験操作を可能とするマイクロ流体デバイスを開発し、個々の細胞から取り出したクロマチンファイバーを、微細操作によって伸展させた形態且つ基板から浮かせた状態で配置・固定する技術を確認する。次いで、このクロマチンファイバー周囲の溶液組成を変化させることで、クロマチンファイバーに高次構造変化をおこし、その様子を実時間観察することにより、クロマチンファイバー高次構造の階層性とその動態を明らかにすることを旨とする。本研究課題遂行を通して顕微鏡下におけるシングルセル・単分子レベル生化学実験手法を確認し、動的クロマチン構造と機能の解明に貢献する。

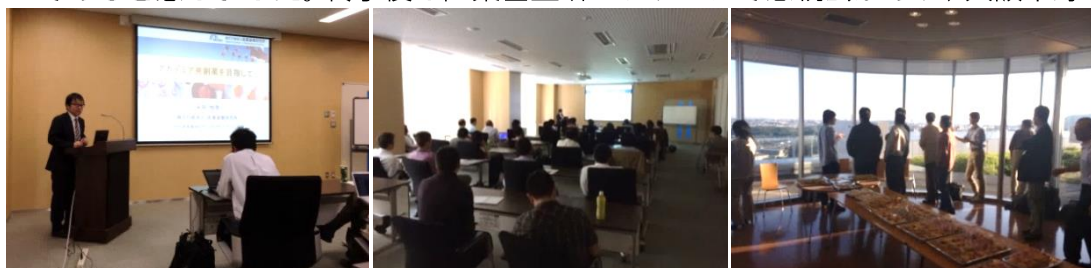


## 2. アウトリーチ活動

### 「クロマチン動構造と創薬」セミナー

2014年5月23日（金）、医薬基盤研究所（大阪府茨木市）にて本新学術領域主催の「クロマチン動構造と創薬」セミナーが開催されました。本領域の計画班、公募班、医薬基盤研、ならびに外部からの参加者があり、会場は多くの聴衆で埋まりました。セミナーは米田悦啓班員によるアカデミア創薬の現状や医薬基盤研の取り組みの話で幕を開けました。医薬基盤研・免疫シグナルプロジェクトリーダー仲哲治先生による自己免疫疾患の発表がそれに続き、さらに本領域からは 木村宏班員、斉藤典子班員、山縣一夫班員、小布施力史班員、今本尚子班員、岡正啓（筆者）がそれぞれ自身の研究と病態や創薬との関連を中心に発表を行いました。多くの基礎研究が病態研究と結びついていることを改めて認識させられた一方で、基礎研究と臨床研究や創薬の間にはまだ隔たりがあると実感しました。また、お互いを知る機会になるこのような発表の場は非常に有意義なものであると感じました。終了後は医薬基盤研のラウンジで懇親会があり、大阪平野を一望しながらリラックスしたムードで会話が弾みました。

（医薬基盤研・岡 正啓）



## 3. 学会報告

### EMBO Workshop “Histone variants”

2014年6月2日から4日まで、フランス東部ストラスブールの Institute of Genetics and Molecular and Cellular Biology (IGBMC) で EMBO Workshop “Histone variants” が開催されました。本領域からは、招待講演として胡桃坂仁志代表が参加し、原田昌彦班員、大川恭行班員と若手の会から越阪部、堀越、有村（以上、胡桃坂班）、日下部、奥（以上、原田班）、前原、原田（以上、大川班）らがポスター発表演者として参加しました。今回が2回目となる会の冒頭で、会場となった IGBMC について、オーガナイザーの Maria-Elena

Torres-Padilla 博士が、年間 200 報以上もの論文報告を行う非常にアクティブな研究所であることを紹介していました。本研究会も、ヒストンバリエントを題材に、この研究所で行われるに相応しい活発な議論が交わされました。

今回のミーティングでは、特に CENP-A (CenH3) の研究をリードする研究者が多く招待されており、濃密な議論がなされました。H3 バリエントの 1 つである CENP-A は、セントロメアに局在し、細胞分裂時の正常な染色体分配に必要とされています。Ben Black 博士は、CENP-C の結合によりヒト CENP-A ヌクレオソーム構造が安定化することを、構造生物学的視点をもとに示しました。さらに、胡桃坂代表は CENP-A ヌクレオソームの末端に位置する DNA のフレキシブルな構造が、セントロメアタンパク質 CENP-B の安定的な結合に寄与するという機能的側面を報告しました。このように、本会において、ヒストンバリエントの“構造”と“機能”が徐々にリンクしてきていると感じ取ることが出来ました。ヒストンバリエントをクロマチンへと取り込むヒストンシャペロンの役割についても新たな知見が報告されました。Geneviève Almouzni 研究室の立和名博士は、CENP-A 特異的ヒストンシャペロン (ヒトでは HJURP) が CENP-A 以外のセントロメアタンパク質の集積にも寄与することを示しました。また Philippe Collas 博士によれば、H3.3-H4 の二量体が核内構造の一つである PML ボディ内にヒストンシャペロン DAXX を介して取り込まれた後に、テロメアへと移行しますが、その補助をするために、DNA 結合因子 DEK が、他のヒストンシャペロンによる H3.3 の無差別的 (promiscuous) なクロマチンへの取り込みを妨害しているという研究報告がありました。これは、取り込みに妨害的な因子の存在が、ヒストンバリエントの局所的なゲノム領域への取り込みを支えるという新しい観点を与えてくれるものでした。Paul Talbert 博士の進化的に CENP-A を介さずに染色体分配を行う生物の報告や大川班員の新規マウスヒストン H3 バリエントの報告は、様々な生物種、組織における細胞機能におけるヒストンバリエントの選択性が重要であることを窺わせるものでした。本会は 2 回目ということでしたが、ヒストンオクタマーを形成する H2A, H2B, H3, H4 とリンカーヒストン H1 に対する各バリエントが多様に存在し異なる機能を持つという事実は、ヒストンバリエントが今後も活発に研究が行われるべきトピックの 1 つであり、今後も会を重ねるごとに会が盛り上がっていくであろうことを感じました。我々、領域若手メンバーも世界をリードする研究を進めていく決意を新たにした有意義な会でした。(早稲田大学・胡桃坂研・有村泰宏、九州大学・大川研・前原一満、原田哲仁)



本会会場である IGBMC にて

※本記事は、日本エピジェネティクス研究会会報にも掲載されています。

## 4. 成果紹介

① 胡桃坂仁志領域代表らの論文が、Biophysical Journal 誌に掲載されました。これは、杉山正明班員、小田隆班員らとの領域内共同研究による成果です。

### Distinct Features of the Histone Core Structure in Nucleosomes Containing the Histone H2A.B Variant.

Sugiyama M, Arimura Y, Shirayama K, Fujita R, Oba Y, Sato N, Inoue R, Oda T, Sato M, Heenan RK, Kurumizaka H.

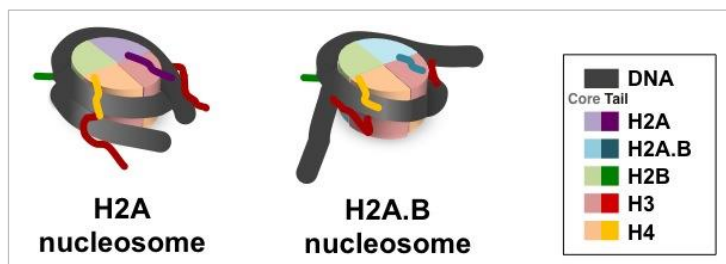
Biophys J. 2014, 106; 2206-2213.

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0006349514003907#>

クロマチンの基本ユニットであるヌクレオソームは、ヒストン H2A、H2B、H3、H4 各 2 分子ずつからなるヒストン 8 量体の周りに約 150 塩基対の DNA が 1.7 周かけて巻き付いた構造体である。ヒストンにはバリエントが多数存在し、特定のゲノム領域において主要型のヒストンがヒストンバリエントへ交換されることによって、その領域のクロマチン動態が変化し、転写をはじめとする DNA 機能発現が制御されると考えられている。

本研究において、我々はヒストンバリエントを含むヌクレオソームの構造を、中性子小角散乱(SANS)によって解析した。SANS 解析の長所は、水溶液中の DNA-タンパク質複合体に含まれる“DNA”と“タンパク質”の構造情報を個別に取得可能な点である。今回、ヒストンバリエント H2A.B を含むヌクレオソームと主要型 H2A を含むヌクレオソーム溶液構造解析を行った。その結果、先に報告した X 線小角散乱(SAXS)解析の結果と一致して、H2A.B ヌクレオソームでは、ヌクレオソーム DNA の末端がヒストン 8 量体から剥がれて広がった構造を形成することが分かった。各ヒストンの N 末端側や C 末端側にはヒストンテールとよばれる領域が存在し、ヌクレオソーム DNA の外側に飛び出し、特定の構造を持たないフレキシブルな状態で存在している。今回、H2A.B ヌクレオソームでは、ヒストンのテール領域の構造が変化し、タンパク質部分では全体としてコンパクトになっていることを明らかにした (図)。

H2A.B は哺乳類特異的な H2A バリエントであり、昨年度、本領域の木村、小田、杉山、胡桃坂らによって、DNA 転写活性化領域、DNA 複製領域、DNA 損傷領域といった、ヌクレオソームの再編成が活発なクロマチン領域に取り込まれることを報告したものである。今後は、H2A.B の特殊なヒストンテール構造が、DNA の転写・複製・修復にどのように寄与するのかを明らかにしたい。



② 山縣一夫班員らの論文が、Stem Cell Reports 誌に掲載されました。これは、大川恭行班員、木村宏班員らとの領域内共同研究による成果です。本研究成果は日刊工業新聞、日経バイオテック、産経新聞、サイエンスポータル、朝日新聞、日本経済新聞に取り上げられました。

## Heterochromatin Dynamics during the Differentiation Process Revealed by the DNA Methylation Reporter Mouse, MethylRO

Ueda J, Maehara K, Mashiko D, Ichinose T, Yao T, Hori M, Sato Y, Kimura H, Ohkawa Y, \*Yamagata K.

Stem Cell Rep., 2, 910-924.

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2213671114001490>

DNA のメチル化は、遺伝子刷り込み (ゲノミックインプリンティング) や X 染色体の不活性化、トランスポゾン転移の抑制など正常な発生過程に重要な役割を果たしているほか、その制御異常が発がんなどの様々な疾患と関連しており、DNA メチル化を指標とした抗がん剤の開発も進められている。また、妊婦の生活習慣が胎児の DNA のメチル化状態に影響を及ぼし、ひいては生まれてくる子どもの疾病罹患率に影響を及ぼすとの研究報



図 1. DNA のメチル化を可視化したメチローマウスの新生児 (黄矢印)。励起光を照射してフィルターを介して見ると全身が赤く光る (右図)。

告もあり、ストレス応答や環境の変化によっても DNA のメチル化がダイナミックに変化するものとして認識されるようになってきている。しかし、これまでの DNA メチル化解析法では、細胞を変性処理してしまうことから、ある瞬間の DNA のメチル化状態しか解析できず、単一の細胞や個体レベルでの動態変化を追跡する手法の開発が求められていた。

本研究では、メチル化 DNA を認識する MBD1 (Methyl-CpG Binding Domain protein 1) たんぱく質の MBD ドメインに赤色蛍光たんぱく質を融合したプローブを全身で発現するマウスを作成し、「メチロー (MethylRO : methylation probe in ROSA26 locus)」と命名した (図 1)。このメチローマウスより得られた細胞を、低侵襲性ライブセルイメージング技術と組み合わせることによって、マウスの着床前初期胚発生過程及び ES 細胞の樹立過程の長期間ライブセルイメージングを行ったところ、細胞分化が進行するに伴って特にセントロメア近傍の DNA メチル化が上昇し、かつヘテロクロマチン構造が形成されていく様子 (図

2) を捉えることができた。これらの結果から、核内の DNA のメチル化レベルの増減だけでなくクロマチン構造そのものが細胞分化の指標になり得ることが明らかとなった。このメチローマウスは、今後のエピジェネティクス研究に有用になるものと考えられる。

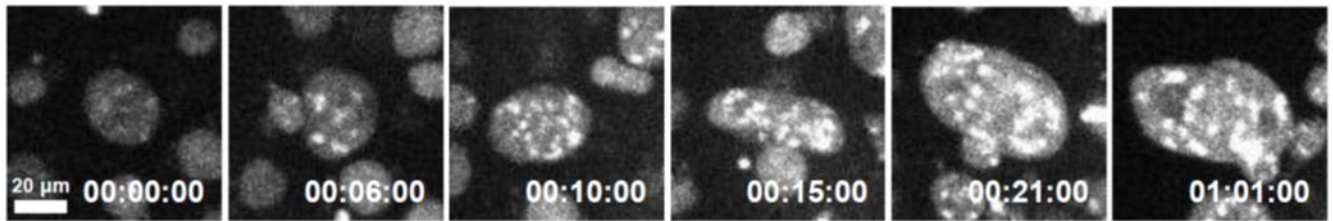


図 2. 細胞分化過程におけるメチル化 DNA の変化。受精卵から胎盤の細胞ができていく過程で、核内において DNA メチル化が上昇し、ヘテロクロマチンが形成されてゆく様子がわかる。

## 5. 今後の予定

### ① 第 14 回 日本蛋白質科学会年会

期間：6 月 25-27 日

場所：ワークピア横浜/横浜ホールマリネリア

本領域協賛のワークショップ「クロマチンの動的構造と DNA 機能発現機構」（オーガナイザー：胡桃坂・河野）があります。

詳しくはこちらをご覧ください。

<http://www.aeplan.co.jp/pssj2014/index.html>

### ② 新学術領域「動的クロマチン構造と機能」若手の会、班会議

期間：7 月 2 日 若手の会、7 月 3-5 日 第 2 回 班会議

場所：サホロリゾート (<http://www.sahoro.co.jp/>)

### ③ 第 23 回 細胞生物学ワークショップ 顕微鏡トレーニング 1-基礎から中級-

期間：8 月 4-9 日

場所：情報通信研究機構 未来 ICT 研究所（神戸）

詳しくはこちらをご覧ください。

[http://www2.nict.go.jp/advanced\\_ict/bio/w131103/CellMagic/workshop/23workshop.pdf](http://www2.nict.go.jp/advanced_ict/bio/w131103/CellMagic/workshop/23workshop.pdf)

編集後記：湿りがちな季節になりましたが、研究の方は湿らずに行きたいところです。個人的には、何気なく眺めてきた太陽の塔も、もうすぐ見納めかと思うと若干いとおしく感じる今日この頃です。来月は、北海道で班会議があります。爽やかな環境で心身ともにリフレッシュできればと思います。ニュースレターでは、本号から公募研究を紹介して行きます。成果紹介や学会報告は随時受け付けておりますので、どしどしお寄せ下さい。

HiKi