



文部科学省科学研究費補助金 新学術領域研究

「遺伝子制御の基盤となるクロマチンポテンシャル」平成30年度-34年度

HP: <https://www.nibb.ac.jp/potentia>

Twitter: https://twitter.com/CP_Publicity

クロマチン潜在能

News Letter No.2 Dec, 2018

1. 研究計画紹介 (木村宏・山縣一夫)
2. 受賞報告
 - 第13回 柿内三郎記念賞 (胡桃坂仁志)
 - 日本生化学会 JB論文賞 (鯨井智也)
3. 領域内サイトビジット
4. 若手支援・アウトリーチ活動
5. 成果紹介
6. その他
7. 今後の予定

1. 計画研究紹介

『細胞核・クロマチン構造のダイナミクスと遺伝子制御』

研究代表者：木村 宏（東京工業大学・科学技術創成研究院・教授）

研究分担者：伊藤 由馬（東京工業大学・生命理工学院・助教）

研究分担者：大川 恭行（九州大学・生体防御医学研究所・教授）

連携研究者：永野 隆（大阪大学蛋白質研究所・特任教授）

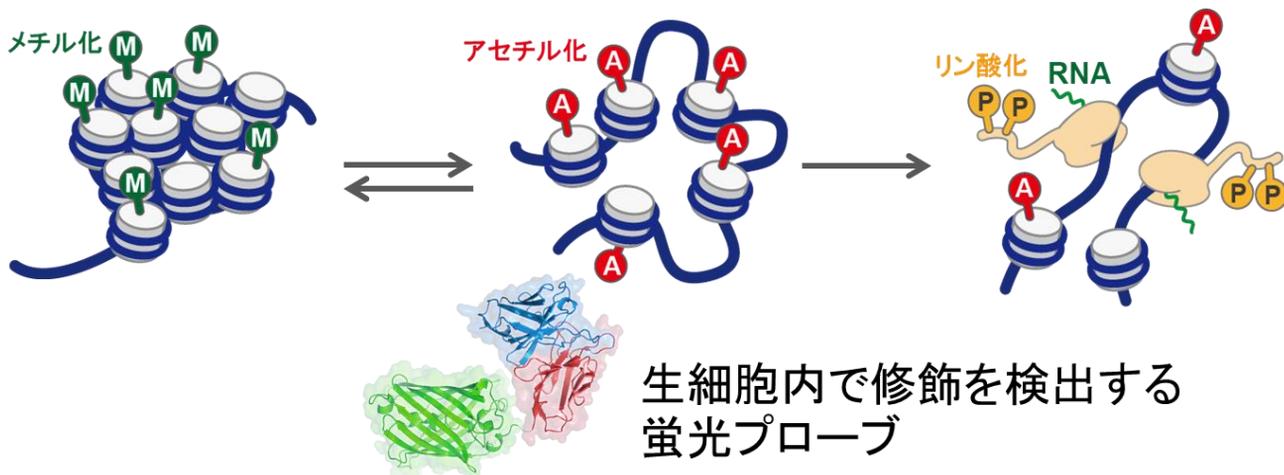
遺伝子がクロマチンの構造変化を経て転写される基本的なメカニズムを理解するためには、細胞内で刻々と変化するクロマチン状態と転写のダイナミクスを明らかにする必要があります。本研究は、生細胞解析と少数細胞エピゲノム解析により、転写活性化のされやすさ（ポテンシャル）という観点から、ヒストン修飾を介したクロマチン構造の機能を明らかにします。具体的には、独自に開発したヒストン修飾や活性型RNAポリメラーゼIIを認識する特異的プローブを用いて、遺伝子活性化と遺伝子抑制が起こる際のクロマチンの構造変化を生細胞イメージングで捕捉し、転写が起こりやすいクロマチン状態の実体を明らかにします。また、独自に開発した少数細胞エピゲノム解析法を用いて、イメージングした細胞のエピゲノム状態やRNAポリメラーゼIIのゲノムワイドな局在を明らかにします。さらに、細胞周期が停止し、遺伝子発現状態が定常期にある終末分化細胞におけるクロマチンと転写の状態とその安定性を保証するクロマチン構造も明らかにします。

潜在性

転写されにくい

転写されやすい

転写

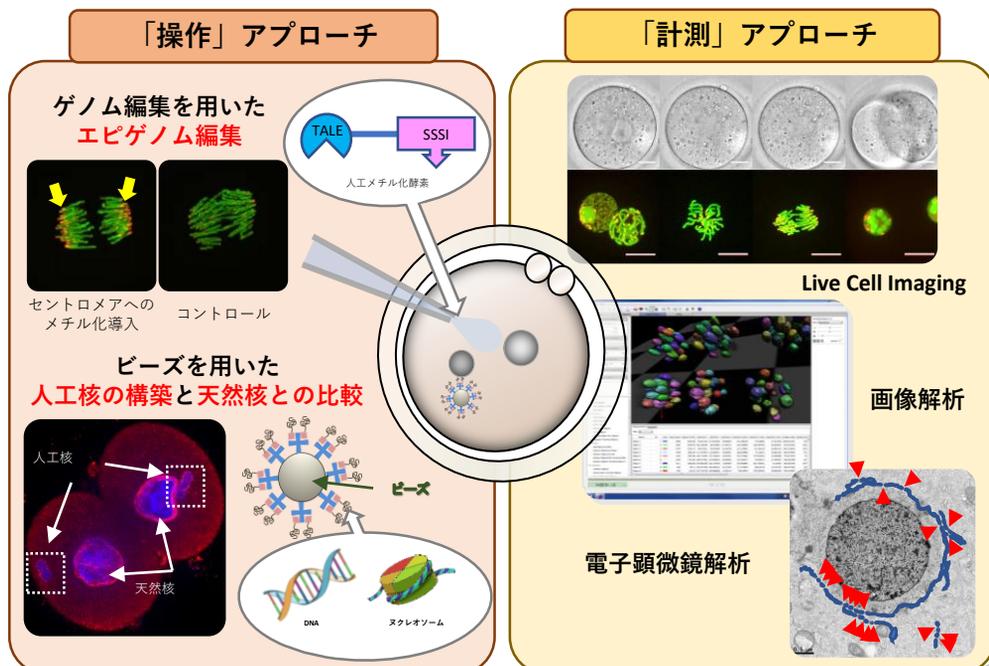


『再構成とエピゲノム編集による初期胚核の機能性獲得機序の理解』

研究代表者：山縣 一夫（近畿大学・生物理工学部・准教授）

研究分担者：原口 徳子（情報通信研究機構・未来ICT研究所フロンティア創造総合研究室・主任研究員）

哺乳類の初期胚発生では、高度に分化した配偶子が受精とともに分化全能性を獲得し、その後、細胞系譜ごとの分化が始まります。その間、グローバルなエピジェネティック修飾や核内クロマチン構造、転写能の変化があることが知られています。では、初期胚核の機能性はどのように獲得されていくのでしょうか。山縣はこれまでに、独自に開発したライブセルイメージングと画像解析技術により、初期胚発生におけるクロマチン構造変化について定量的な知見を報告してきました。しかし、それらと転写活性化などの機能性獲得の関連を明らかにするためには、通常の胚の核を単に観察するだけでなく、積極的にクロマチンを「操作」する技術が必要です。そこで本研究では、分担者の原口と協力しながらDNAやヌクレオソームなど特定要素（群）を用いて初期胚内に人工核を創出する再構成技術を開発します。また、受精卵の中で生きたまま適時にDNAメチル化を操作するエピゲノム編集技術を発展させます。以上から、これまでの「計測」技術にこれら2つの「操作」するアプローチを組み合わせ、初期胚内に転写・複製をする人工核を造り出し、任意のタイミングでエピゲノム編集を行い、それによる転写やクロマチン状態の応答変化を同一細胞内の天然核を指標としながら詳細に定量・比較することにより、「初期胚核の機能がどのような要素によって・いつ・どこで・どのように獲得されていくか」を明らかにします。



2. 受賞報告

■ 第13回 柿内三郎記念賞 (胡桃坂仁志)

このたび、2018年9月24日(月)に日本生化学会にて、第13回柿内三郎記念賞を「ゲノム機能を制御するエピジェネティクスの構造・生化学基盤」にて受賞いたしました。

クロマチンの基盤構造であるヌクレオソームの立体構造と動的性質は、ヒストンの翻訳後修飾、ヒストンバリエント、DNAメチル化などの「エピゲノム情報」の付加により変動しています。近年、そのヌクレオソームレベルでの“動構造”が、ゲノム機能の調節、すなわち“エピジェネティクス”、に重要であることがわかってきました。このヌクレオソームによるゲノム機能調節の破綻は、がんやメタボリックシンドロームなどの疾患を引き起こす直接的な原因ともなっています。胡桃坂は、特定のエピゲノム情報を有するヌクレオソームを試験管内で再構成するという独自の技術を開発し、エピゲノム情報が機能するしくみを構造生物学的に理解する研究を行ってきました。受賞の対象となった研究として、精巢特異的H3Tを含むヌクレオソームの立体構造の解明 (PNAS, 2010)、セントロメア特異的なヒストンバリエントCENP-Aを含むヌクレオソームの立体構造の解明 (Nature, 2011)、新規のクロマチン基盤構造「オーバーラッピング・ダイヌクレオソーム」の立体構造の解明 (Science, 2017)、ヒストンH3リジン9のトリメチル化とHP1を含むヘテロクロマチンの基盤構造の解明 (Mol. Cell, 2018)、などが挙げられます。本年度から、「クロマチン潜在能」領域に計画研究代表として加えていただきましたが、これらの研究は、領域代表の木村さんをはじめ、立和名さん、大川さん、杉山さん、河野さんらの多くの本領域研究者との共同研究の成果です。この場を借りて御礼を申し上げるとともに、今後、我々のin vitro系がクロマチンポテンシャルの解明のための重要なツールとなるよう益々精進いたします。



(東京大学・胡桃坂仁志)

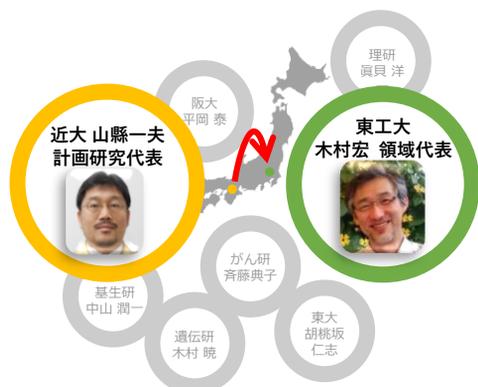
■ 日本生化学会 JB論文賞 (鯨井智也)

今回「Influence of polynucleosome preparation methods on sedimentation velocity analysis of chromatin」というタイトルの論文にて、日本生化学会JB論文賞を受賞致しました。JB論文賞は、日本生化学会の英文誌であるThe Journal of Biochemistry (Oxford University Press)に掲載された論文の中から選ばれる賞です。本論文は、ポリヌクレオソームを様々な方法に

より調製し、調製法の違いが、超遠心法による沈降速度解析に与える影響を比較検討したものです。クロマチンの高次会合状態は、分析超遠心法によって解析できますが、これまで様々な方法でのクロマチンサンプルの調製による解析が混在しておりました。本論文では、これまでに行われていた主要な3つの方法でポリヌクレオソームを調製し、超遠心法による沈降速度解析の結果を比較致しました。本結果は、ポリヌクレオソームの調製方法の選択と、解析結果の評価において重要な基盤情報を提供します。クロマチン研究を進める上で必須となる重要な論文を発表できたと考えております。

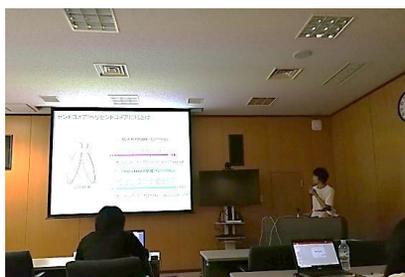
(東京大学・鯨井智也)

3. 領域内サイトビジット



2018年8月1(水)-2日(木)に、東京工業大学すずかけ台キャンパスにある、木村宏研究室へのサイトビジットに同行しました。この会は各研究室の研究員、学生の意見交換や交流を目的として、本学術領域の領域代表である木村宏（東工大）と計画代表である山縣一夫（近畿大学）主催で執り行われました。

1日目は、東工大の研究施設等を見学し、その後、各研究室の代表4名ずつ計8名が各自の研究テーマの進捗状況を口頭で発表しました。どのテーマも魅力的で、時間いっぱい活発な議論が続いていました。学部4回生の私は、大学以外で研究発表を行うのは初めてでしたが、皆さんのサポートもあり何とか発表を終えることができました。普段味わうことのない緊張感と雰囲気味わうことができ、大変良い経験となりました。



口頭発表の様子



ディスカッションの様子



個別ディスカッションの様子

2日目は、それぞれの研究テーマに分かれ、今後の研究方針の確認のための個別ディスカッションが行われました。皆、活発に意見交換をしており、白熱した会となりました。私は話についていくのがやっとでしたが、一緒に参加していた院生の先輩方は、大いに意見を言い合っており、自分も早くそのようになりたいと感じました。2日間のディスカッションを通して、私が研究している mintbody やゲノム編集を用いた染色体の可視化に関して重要なコメントをいただくことができました。実験意欲がさらに湧き、研究室に戻ってからすぐに実験に取り掛かりました。

(近畿大学・山縣研・B4・植田 朱音)

4. 若手支援・アウトリーチ活動

■ 三島市内小学生を対象にした「夏休み遺伝学講座」

2018年7月31日(火)に国立遺伝学研究所にて、静岡県・三島市内小学校4～6年生を対象とした「夏休み遺伝学講座～スマホ顕微鏡でみる、遺伝学で活躍する小さな生き物～」(主催：三島市・遺伝学普及会)が開催されました。国立遺伝学研究所・木村暁計画研究代表が講師役を務め、26名の生徒に研究用の顕微鏡やスマホ顕微鏡を実際に使い、線虫、イネ、ショウジョウバエ、ゼブラフィッシュなどを観察してもらいました。所内研究者に提供してもらった遺伝子変異体も観察し、遺伝子の働きについて解説しました。詳細は<https://www.idengaku-fukyukai.info/講演-セミナー案内-1/過去の講演-セミナー/>で紹介されています。



(国立遺伝学研究所・木村暁)

■ 御殿場南高校の職場訪問受け入れ



2018年8月7日(火)に御殿場南高校の生徒4名が、国立遺伝学研究所・木村暁計画研究代表の研究室を職場体験として訪問しました。線虫を用いた研究内容について説明を受けた後、実際に線虫の胚を顕微鏡で観察する実験を体験しました。

(国立遺伝学研究所・木村暁)

5. 成果紹介

■ 齊藤典子計画研究代表らの論文が、eLIFE誌に掲載されました。

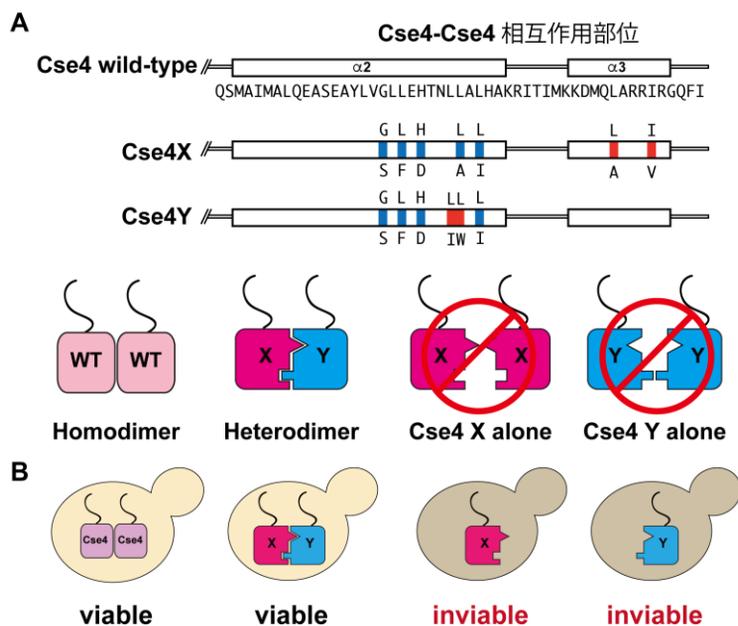
An asymmetric centromeric nucleosome.

Ichikawa Y, Saitoh N, *Kaufman PD

eLIFE. 2018 Aug 23. doi: <https://doi.org/10.7554/eLife.37911>

<https://elifesciences.org/articles/37911>

真核生物のゲノムDNAはクロマチンとして細胞核内に収納されている。クロマチンを構成する基本単位はヌクレオソームと呼ばれ、H2A、H2B、H3、H4の各ヒストンタンパク質を2分子ずつ含むヒストン8量体に、DNAが巻きついた構造をしている。ところが、セントロメア領域においては各ヒストンを1分子ずつしか含まない4量体型のヌクレオソーム (hemisome) の存在が示唆されており、4量体型と8量体型のどちらのヌクレオソームがセントロメアの機能において重要なのかという点が不明であった。この点を明らかにするためには、上記の異なるヌクレオソームを細胞内でコントロールする必要がある。ヌクレオソーム中の各ヒストン分子はdyad axisに対して対称に配置されている。我々は、この対称構造の中心に位置するH3 homodimerに着目し、H3の相互作用部位に変異を導入することで、homodimerではなくheterodimerを優先的に形成する改変型H3 (H3X, H3Y) を作製した (Ichikawa et al. eLife 2017)。本論文では、出芽酵母のセントロメア特異的なH3バリエーションであるCse4にこの手法を応用し、改変型Cse4 (Cse4X, Cse4Y) を作製した (図A)。このシステムを用いて、Cse4XとCse4Yの両者を発現した出芽酵母は生育可能であるが、Cse4XまたはCse4Yのみを発現する出芽酵母は生育できないことを明らかにした (図B)。この結果から、Cse4を2分子含む8量体型ヌクレオソームが、セントロメアの正常な機能と細胞の生育において重要であることが示された。



■ 胡桃坂仁志研究計画代表らの論文がScience誌に掲載されました。

Structural basis of the nucleosome transition during RNA polymerase II passage.

†Kujirai T, †Ehara H, Fujino Y, Shirouzu M, *Sekine SI, *Kurumizaka H

Science. 2018 Nov 2. doi: 10.1126/science.aau9904

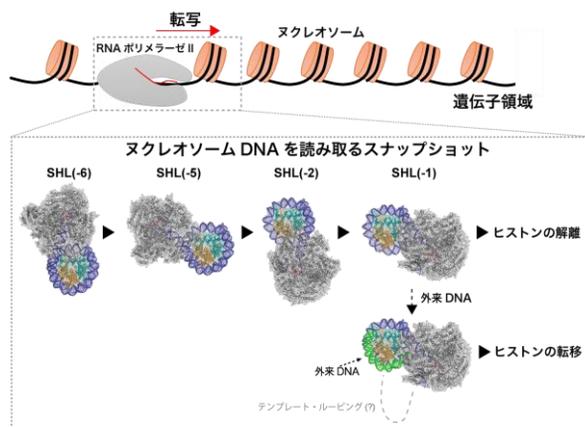
<http://science.sciencemag.org/content/362/6414/595.long>

クロマチンは、ヌクレオソームを基本単位とする超分子ポリマーである。RNAポリメラーゼIIはタンパク質をコードするmRNAや、ノンコーディングRNAをDNAから転写する中心的な酵素である。クロマチン上においてRNAポリメラーゼIIが転写伸長を行うためには、ヌクレオソームのヒストンに強固に結合しているDNAを読み取る必要がある。そのため、RNAポリメラーゼIIがヌクレオソームDNAを読み取る機構は、ヌクレオソームが発見されて以来の重要な未解決問題だった。これまでにゲノムレベルでの解析から、細胞核においてRNAポリメラーゼIIは、ヌクレオソーム中で段階的に停止しながら転写を進めていくことが報告されていた。今回、クライオ電子顕微鏡を用いた単粒子解析法によって、RNAポリメラーゼIIがヌクレオソームDNAを転写するスナップショット構造を、世界で初めて解明した。

本研究では、まずヌクレオソームを鋳型とするin vitro転写系を確立した。そして、in vitroでの転写反応を行い、ヌクレオソームDNA中のさまざまな位置で停止しているRNAポリメラーゼII複合体の粒子像をクライオ電子顕微鏡によって得た。これらのデータを用いて単粒子解析を行った結果、ヌクレオソーム上の超らせん位置(SHL(super helical location))、(-6)、(-5)、(-2)、(-1)において停止したRNAポリメラーゼIIとヌクレオソームとの複合体の立体構造を決定することに成功した(図)。そして、

一連の構造から、RNAポリメラーゼIIは、ヌクレオソームからDNAを段階的にはがしながら転写伸長反応を触媒することが明らかになった。また、RNAポリメラーゼIIは、RNAポリメラーゼIIのサブユニットのRpb1とヌクレオソームDNAとの相互作用による安定化や、ヒストンとDNAとの強い相互作用部位の存在によって停止することが分かった。驚いたことに、SHL(-1)で停止した複合体では、およそ60塩基対のDNAがはがれて露出したH2A-H2B二量体の領域に、溶液中に含まれる他のヌクレオソームのリンカーDNAが、トランスに結合した構造を形成することが判明した。このDNAがトランスに結合した複合体は、転写反応中に生じるヒストンの転移現象の中間体構造である“テンプレートルーピング”構造を示唆した(図)。

本研究により得られたRNAポリメラーゼII-ヌクレオソーム複合体の一連の立体構造は、クロマチンでのRNAポリメラーゼIIによる転写反応機構を初めて示したものであり、エピジェネティックな遺伝子発現の制御機構を理解する上での極めて重要な知見を提供した。



7. その他

■ 胡桃坂仁志研究計画代表らが編集した本が出版されました。

著書タイトル：実験医学増刊 Vol.36 No.17

教科書を書き換える！染色体の新常識

ポリマー・相分離から疾患・老化まで

編集者：平野達也, 胡桃坂仁志*

発行：2018年10月

ISBN：978-4-7581-0374-9



■ 中山潤一研究計画代表らが監訳した本が出版されました。

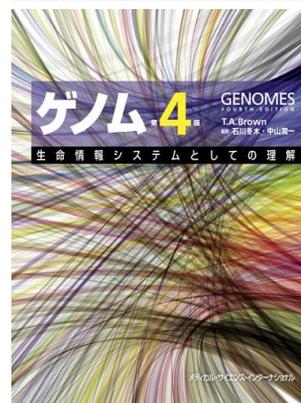
原著タイトル：Genomes, 4th Edition

原著者：T. A. Brown

監訳：石川冬木, 中山潤一*

発行：2018年9月

ISBN：978-4-8157-0132-1



8. 今後の予定

■ 第36回 染色体ワークショップ・第17回 核ダイナミクス研究会

日時：2019年1月23日(水)-25日(金)

場所：兵庫県宝塚市湯本町9-25 宝塚温泉ホテル若水 (<https://h-wakamizu.com/>)

会費：一般36,000円、学生29,000円 (宿泊、食事込)(予定)

世話人：深川竜郎 (大阪大学)、加納純子 (大阪大学)

後援：文部科学省新学術領域研究「クロマチン潜在能」、 「染色体OS」

<http://www.chromosomeos.com/news/669>

編集後記：

科研費申請の時期が終わり、落ち着いて実験などに取り組める日々を喜んでいたのも束の間、あっという間に師走が迫りつつあります。寒さに打ち勝つにも研究をするにもまずは体力、ということで、隙を見てジョギングに励んでいます。少し運動するだけで気分もさっぱりして一石二鳥です。少し気が早いですが、皆さま良いお年をお過ごしください。(NS.YS)