



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.3 Mar, 2019

1. 計画研究紹介 (木村暁・眞貝洋一)
2. ミーティングレポート
3. 領域内サイトビジット
4. 成果紹介
5. 今後の予定

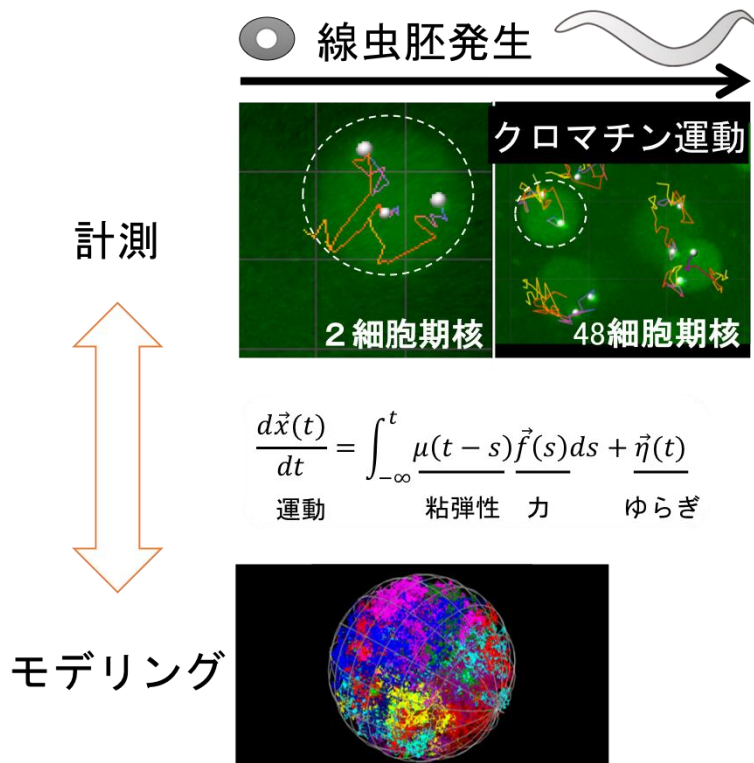
1. 計画研究紹介

『物理計測と理論モデル構築によるクロマチンポテンシャルの理解』

研究代表者：木村 暁（国立遺伝学研究所・構造遺伝学研究センター・教授）

研究分担者：坂上 貴洋（青山学院大学・理工学部・准教授）

クロマチンは細胞核内で激しく動いています。このクロマチンの運動は、胚発生の過程で低下することが観察されるなど、遺伝子発現と密接に関連していることが期待されますが、その運動の原動力や意義についてはほとんどわかっていません。そもそも、核内のような混雑環境下で染色体のような長い紐状の分子は、どのようにして絡まりあうことなく動くことができるのでしょうか？本研究課題では『クロマチンの運動がクロマチンポテンシャルを規定する新たな要因である』とする仮説に基づいて、クロマチンの運動メカニズムと、クロマチンの運動が遺伝子発現制御に果たす役割を理解することを目指します。線虫初期胚を主な材料に用いて、核内の粘弾性やクロマチンに作用する力といった物理パラメータを計測する方法を確立した上で、計測結果と高分子物理学に基づいてクロマチンの運動様式やその原動力に関する理論モデルを構築します。そして、これらの物理パラメータに影響する遺伝子を同定することによって、原動力の分子的基盤を明らかにします。さらに、同定した遺伝子の操作などを通じて、クロマチン運動を変化させた際の遺伝子発現への影響を計測し、クロマチン運動と転写制御の関係を理解します。これらの解析により、転写制御を司るクロマチンポテンシャルに影響する物理的要因とその作用メカニズムを明らかにできると考えています。



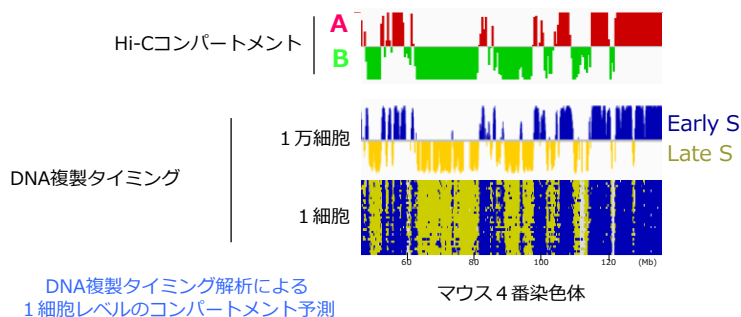
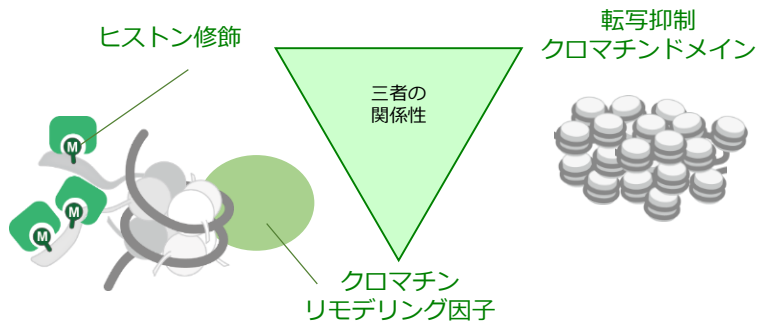
『細胞分化に伴うクロマチンポテンシャルの変化とその分子機構』

研究代表者：眞貝 洋一（国立研究開発法人理化学研究所・開拓研究本部）

研究分担者：平谷 伊智朗（国立研究開発法人理化学研究所・生命機能科学研究センター）

遺伝子の発現は、ゲノム情報であるDNAとヒストンタンパク質から成るヌクレオソームレベル、ヌクレオソームがさらに折り畳まれたクロマチンレベル、そしてクロマチンが核内でどのような配置を取るかといったクロマチンドメインや核内コンパートメントと呼ばれるレベルで多階層的に制御されています。これらのクロマチンの高次構造は細胞分化に伴って変動し、クロマチンが潜在的にもつ転写の起こりやすさ（クロマチンポテンシャル）を規定していると考えています。本研究では、マウス胚性幹細胞（ES 細胞）とそれを分化させた細胞を用いて、クロマチンの動的制御に関わる因子に焦点を絞り、ヌクレオソームレベルからクロマチンドメインや核内コンパートメントレベルで働いているクロマチン構造制御に寄与する機構を明らかにします。具体的には、ATP依存性クロマチンリモデリング因子による動的制御によってクロマチンポテンシャルを規定するDNAやヒストンのエピゲノムが細胞増殖や分化に伴ってどのように維持あるいは変化するのか、さらにはそれらの制御がより高次のクロマチン構造に寄与するか、を解析します。また、特定クロマチンドメインの細胞分化に伴う核内コンパートメント変化を生細胞で可視化する実験系の構築と、これを用いた核内コンパートメント制御因子の網羅的探索に取り組みます。これらの解析を通して、細胞分化を実現するクロマチンポテンシャルの実体に迫ります。

細胞分化に伴うクロマチンドメイン構造変化の制御機構



2. ミーティングレポート

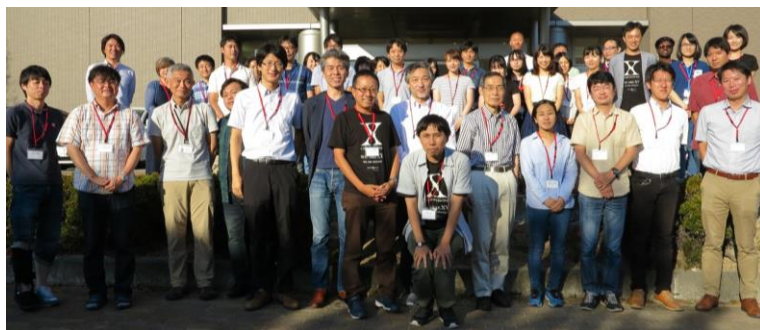
The 6th X chromosome meeting (第6回X染色体研究会)

It is known that in female mammals, one of the two X chromosomes is inactivated for dosage compensation during early embryonic development. The process of X chromosome inactivation has been widely studied for more than half a century. But you might not be aware that there is a strong group of scientists in Japan working together to reveal this mysterious process as well. The 6th X chromosome meeting was held in RIKEN BDR, Kobe, on 27th-29th August 2018, hosted by Dr. Ichiro Hiratani (RIKEN



BDR). This domestic meeting gathered more than 40 participants from institutes all over Japan, which included many “Chromatin Potential” members. This was a great opportunity for me to meet many great scientists including Prof. Emeritus Nobuo Takagi (Hokkaido University), who is one of the pioneers of X chromosome research in Japan. As the community is not that big, everyone seemed to know each other very well.

In this meeting, more than 20 presentations were given by not only senior scientists, but also young scientists including students, covering various topics. I learned many things since the presentations covered diverse topics related to dynamics, structures and mechanisms related to X chromosome inactivation. Aside from the X chromosome-related topics, several talks focused more on epigenetic and chromatin regulation in general, as well as the latest development of novel experimental technologies. All of the presentations were very interesting and after each talk, people actively asked questions and provided fruitful discussions. Because the talks were not limited to completed works, I believe many speakers, including myself, received helpful suggestions for on-going projects. After long hours of discussion, we had a small party each night, which was very fun. I saw everyone enjoying conversation and continuing discussion in a relaxed atmosphere.



These settings are more likely to strengthen personal connections, which may lead to collaborations in the future. Thus, what I got from this meeting was not just knowledge from scientific exchange, but I also felt like I was being a part of this scientific community.

(RIKEN BDR · Rawin POONPERM)

3. 領域内サイトビジット

招待講演及び討論会



2018年9月18日(火)に胡桃坂先生を近畿大学にお招きし、これまでの研究成果や最新のデータに至るまで、詳細に分かりやすく講演して頂きました。また、討論会では、ご自身の学生時代から現在に至るまでの経緯をお話してくださいました。特に、討論会での胡桃坂先生と山縣先生の漫才のような絶妙な掛け合いとテンポの良さが素晴らしかったです。内容もすごく面白く、胡桃坂先生の近大生への熱い思いが話の節々から伝わってきて、どんどん

話の中に引き込まれました。研究だけでなく、研究に対する姿勢、ご自身の生き方や考え方について他大学の方から直接お話を聞く機会はほとんどないので、本当に有意義な時間を過ごすことができました。

山縣研・胡桃坂研懇親会

講演終了後、山縣研だけでなく本大学の他研究室の方々もご招待し、胡桃坂研との懇親会を行いました。

そこで、胡桃坂先生作詞・作曲のオリジナルソング

「Nucleosome song」を披露していただきました。以前から、動画中で胡桃坂先生が学生の方々と楽しそうに歌っている姿がとても素敵だと思っていたので、生演奏を見た時は感動と興奮で鳥肌が立ちました。研究室間の密な連系により、益々研究が発展すると感じました。(近畿大学・山縣研・M1・小栗未生奈)

研究打ち合わせ

当研究室で行っている「人工核の創出」と「生殖細胞特異的なキネトコアの再構築」の研究について胡桃坂先生とその研究室の方々を交えてディスカッションを行いました。私自身、他の研究室の先生とディスカッションを行うのは初めてのことだったのでとても緊張しており、自身の研究についてうまく伝えられるか不安でしたが、胡桃坂先生は興味を持って話を聞いてくださり、また的確な指摘をしてくださいました。さらに、新学術領域研究の1つであるヌクレオソームビーズ作製に関するディスカッションを行い、とても有意義な時間を過ごしました。今回のディスカッションで受けた指摘をもとに、よりいっそう研究に励んでいきたいと思いました。

(近畿大学・山縣研・B4・福田龍人)



招待講演及び討論会の様子

📖 機械学習による画像解析について学ぶ

2018年10月16日(火)–19日(金)に大阪大学理学部小布施研究室から、がん研究所がん生物部である齊藤典子先生の研究室へサイトビジットを行いました。

私に取り扱っている遺伝子をマウスやヒトの細胞で発現量を変えると、クロモセーターなどのヘテロクロマチンに由来する核内ボディーの形態が変わるといふ観察結果を得ているのですが、「本当に変わっているの?」「岩田くんがそう思っているだけじゃないの?」と疑われてしまいます。そこで、齋藤先生お得意の機械学習

による画像解析ツール、wndchrnを活用しようと考えました。

普段は学生の多い環境で研究を行なっているため、大人の人が多いがん研究所の雰囲気は初めは緊張しました。しかし、がん生物部の皆さんがあたたかく迎え入れてくださり、その緊張もすぐに解けていきました。初日はwndchrnを使ってやりたいことを中心に、研究内容についてディスカッションを行いました。2日目、3日目は研究助手の酒田さんにwndchrnによる解析手法をわかりやすく1から教えていただき、自分自身の手でwndchrnを動かせるようにまでなりました。ついには、wndchrnは私が目で見ていた観察結果を数値化し客観的に支持してくれました。最終日には、今回の解析結果について齊藤先生をはじめ、みなさんとディスカッションをしていただき、そこで新たな課題も見つけることができました。

4日間という短い期間でしたが、wndchrnに関する知識だけでなく、新鮮な環境で多くのことを学ぶことができ、とても有意義な時間を過ごすことができました。このような機会を与えてくださった齊藤先生はじめ研究室の皆様、どうもありがとうございました。

(大阪大学・M1・岩田 優吾)



4. 成果紹介

■ 伊藤由馬分担らの論文がScientific Reports誌に掲載されました。

CLIP-170 is essential for MTOC repositioning during T cell activation by regulating dynein localization on the cell surface.

† Wei Ming Lim, † Yuma Ito, Kumiko Sakata-Sogawa & Makio Tokunaga

Sci Rep. 2018 Nov 28. doi: <https://doi.org/10.1038/s41598-018-35593-z>

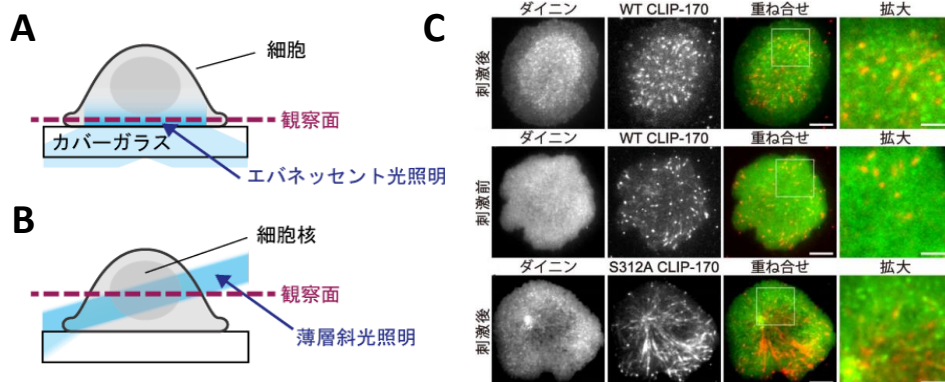
<https://www.nature.com/articles/s41598-018-35593-z>

生細胞蛍光イメージングは、クロマチンなどの細胞内構造をリアルタイムで捉え、その動態を定量的に解析できる強力な手法である。特に、標的のタンパク質に融合する蛍光色素や、照射する励起光を工夫することで、目的タンパク質を1分子ずつ観察することも可能である。これまで我々は、独自に開発した対物レンズ型全反射照明法(図A)や薄層斜光照明法(図B)を用いて、細胞核や細胞膜における様々な生体分子の1分子イメージングを実現するとともに、1分子の軌跡から得られる分子動態の定量解析法を開発してきた(Ito et al. Sci Rep 2017)。

本研究では、この顕微鏡法を用いて免疫細胞の活性化における中心体移動の仕組みを解明した。中心体は細胞分裂期の染色体分配における重要な構造体であるが、免疫細胞の活性化時には、細胞核側から細胞表面近くにダイナミックに移動し、サイトカインの分泌などに重要な役割を果たしている。今回、生きた細胞表面における複数種のタンパク質を同時にイメージングすることで、中心体から伸長する微小管の動態を詳細に解析し、微小管プラス端集積タンパク質の1つであるCLIP-170が、中心体移動と免疫細胞活性化に重要な役割を果たしていることを明らかにした。

(詳細は<https://www.titech.ac.jp/news/2018/043123.html> で紹介)

本研究の生細胞イメージングでは、細胞内構造の中でも特にダイナミックな微小管伸長端の動きを、全反射照明法で鮮明に捉えることに成功した(図C)。さらに照明法の切り替えにより、同じ細胞内の細胞核近傍の中心体も観察する方法も確立した。この観察法は、クロマチンの動態を、細胞核内の様々な位置から捉えるときに有用であり、そのダイナミックな構造変化に対する詳細な定量解析と組み合わせることで、今後、クロマチン動態メカニズムの解明に寄与することが期待される。



(A) 全反射照明法。(B) 薄層斜光照明法。

(C) 全反射照明法を用いた、細胞表面における微小管動態のイメージング
(Bars: 重ね合わせ 5 μm, 拡大 3 μm)。

■ 大川恭行分担、胡桃坂仁志計画研究代表、木村宏領域代表らの論文がNature Cell Biology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。

A chromatin integration labelling method enables epigenomic profiling with lower input.

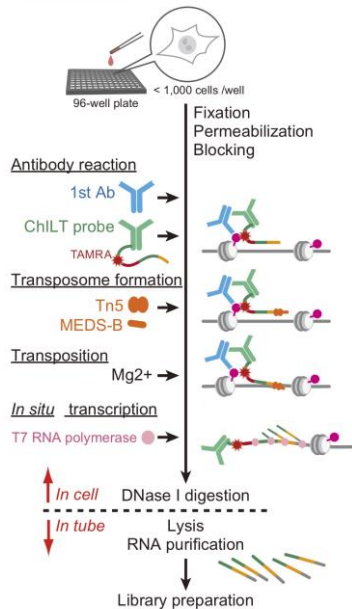
Nat Cell Biol. 2018 Dec 10. doi: 10.1038/s41556-018-0248-3

†Harada A, †Maehara K, †Handa T, Arimura Y, Nogami J, Hayashi-Takanaka Y, Shirahige K, Kurumizaka H, Kimura H, *Ohkawa Y.

<https://www.nature.com/articles/s41556-018-0248-3>

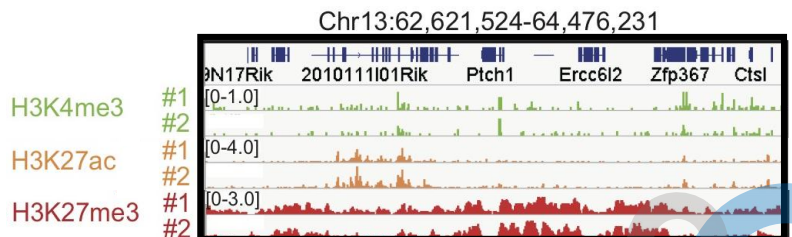
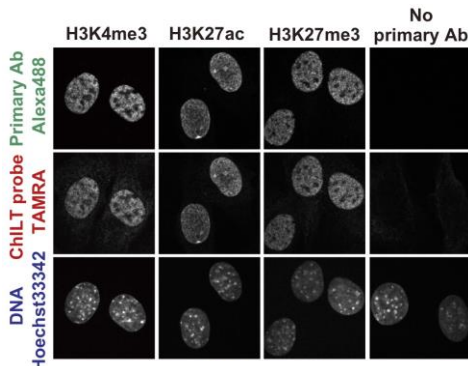
人体に存在する30兆個の細胞は全て同一の遺伝情報を持ち、異なる組織を構成する細胞はそれぞれ特定の遺伝子を選択的に発現して固有の性質を獲得する。現在、次世代シーケンサーによる網羅的に発現する遺伝子をプロファイリングするRNAシーケンス技術の技術発展により、単一の細胞での遺伝子発現（個々の遺伝子のRNAの存在量）を解析することが可能になっている。しかしながら、遺伝子の発現制御のメカニズムを理解するために不可欠なエピゲノム解析は、従来の手法では少なくとも数千個の細胞を必要としたため、幹細胞など生体内に僅かにしか存在しない細胞への適用は極めて困難であった。本研究では、極めて少数の細胞を用いてエピゲノム情報を取得できる「クロマチン挿入標識

Cell preparation



(Chromatin Integration Labeling: ChIL)」法を開発した。本手法は、細胞を破壊することなしに、任意の転写因子やヒストン修飾が存在する領域の塩基配列を増幅することができるため、高感度での解析ができる。そのため、遺伝子発現を制御する転写因子の結合位置やヒストン修飾を単一の細胞で測定することが世界で初めて可能になった。本研究により開発された手法は、胚発生や細胞分化の制御機構など生命現象を制御する分子機構の解明に極めて有用であるとともに、がん研究・再生医療などへの応用が広く期待される。

本研究開発は、7年前の新学術領域「遺伝情報場」（平岡泰代表）の最終年度領域会議で、木村宏現領域代表と共にした朝食での紙ナプキンに書いたアイデアから始まった。そして、新学術領域「クロマチン動構造」（胡桃坂仁志代表）の6年から更にクロマチン潜在能へと長年に渡る領域内共同研究により達成された。参画した全てのメンバーの尽力と領域から支援に深く感謝したい。



■広島大学の研究グループ（粟津暁紀准教授）と、平岡泰計画研究代表、原口徳子分担らの論文が、Journal of the Physical Society of Japan (JPSJ) 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。

Torsional turning motion of chromosomes as an accelerating force to align homologous chromosomes during meiosis

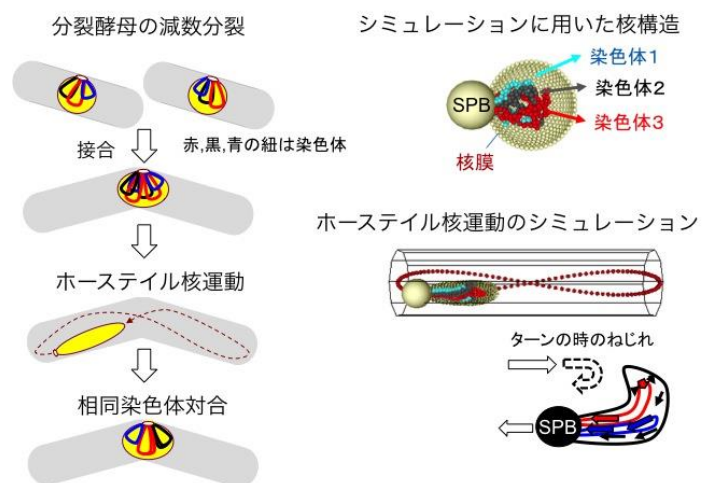
J Phys Soc Jpn. 88, 023801 (2019)

Kazutaka Takao, Kazunori Takamiya, Da-Qiao Ding, Tokuko Haraguchi, Yasushi Hiraoka, Hiraku Nishimori, Akinori Awazu

<https://journals.jps.jp/doi/full/10.7566/JPSJ.88.023801>

減数分裂の際には、2本の相同染色体（両親から1本ずつ由来した染色体）が組換えを起こして、卵子や精子などの子孫細胞が作られる。相同染色体が組換えするためには、相同染色体同士が横に並んで‘対合’する必要である。この研究では、どのような物理的な力が、相同染色体の対合を引き起こすか、数理モデルによるシミュレーションを使って解析した。解析には、染色体の数が少ない（3本）分裂酵母をモデル生物として用いた。分裂酵母では、減数分裂の前期に、核が大きく伸張・変形しながら、細胞の中を、端から端まで往復するような振動運動することが知られている（この振幅運動は、核が馬のしっぽのような形になることから“ホーステール”核運動と呼ばれている）（図左）。そこで、各染色体を小さな球体が繋がったひも、核膜を小さな粒子が繋がって出来た一層の膜として仮定し、核に振動する外力を加え核と染色体の動態を検討した（図、右上）。

この研究では、従来の研究では無視されていた核膜の変形と、それに伴って核内に生じる核質の流動の影響を加味したモデルを立てた（図、右下）。このような解析から、相同染色体を整列させるための主な力が、核が細胞の端まで往って折り返す際の‘ねじれの動き’と、その動きに対する各染色体の長さの違いに依る追従性の違いであることが分かった。その‘ねじれの動き’によって生じる力によって相同染色体の間隙に存在する染色体が排除され、その結果、相同染色体同士が対合すると云うモデルを提唱した。



図：シミュレーションによる相同染色体対合メカニズムの解析
分裂酵母の減数分裂過程（左）。シミュレーションに用いた核構造（右）。

5. 今後の予定

■ 第13回 エピジェネティクス研究会年会

日 時： 2019年5月28日(火)-29日(水)

会 場： 神奈川県県民ホール 小ホール／横浜産貿ホール

代表者： 古関明彦（国立研究開発法人・理化学研究所）

参加費： 事前登録 一般会員 3,000円 学生 1,000円 非会員4,000円

当日登録 一般会員 4,000円 学生 2,000円 非会員5,000円

Homepage <http://square.umin.ac.jp/jse2019/>

■ 第2回 領域会議・第1回クロマチンポテンシャル・ワークショップ

日 時： 2019年6月21日(金)-22日(土)

会 場： 愛知県蒲郡市竹島町1-6 ホテル竹島 (<http://www.hotel-takeshima.co.jp/>)

世話人： 中山潤一（基礎生物学研究所）、小布施力史（大阪大学）

■ International Symposium for Female Researchers and Leadership / Lab management training course

日 時： 2019年6月23日(日)

会 場： 理化学研究所 生命機能科学研究センター

（神戸 発生・再生研究棟C オーディトリウム）

オーガナイザー： Susan Gasser (FMI, Switzerland), Noriko Saitoh (JFCR, Japan)

Ichiro Hiratani (RIKEN BDR, Japan), Yuki Okada (Univ. of Tokyo, Japan)

参加費： 講演（午前）無料、ただし昼食参加の場合は登録が必要

EMBO コース(午後) 3,000円、登録が必要

Homepage <http://www.nibb.ac.jp/potentia/ISFRCB2019/index.html>

■ 第19回 日本蛋白質科学会/第71回 日本細胞生物学会 合同年次大会

日 時： 2019年6月24日(月)-26日(水)

会 場： 神戸国際会議場、神戸国際展示場

大会長： 城 宜嗣（兵庫県立大学） 遠藤 斗志也（京都産業大学）

参加費： 事前登録 一般会員 7,000円 学生 無料 非会員11,000円

当日登録 一般会員 8,000円 学生 無料 非会員12,000円

Homepage <https://www2.aeplan.co.jp/jscb-pssj2019/>

編集後記：だんだんと春を感じる季節になりました。私ごとで大変恐縮ですが、2月末より米国ペンシルベニア大に留学することになりました。ニュースレターの編集を介して、たくさんの方達との交流し、多くの事を学ぶ事ができました。このような機会を与えて頂いた事に、この場を借りて心から感謝申し上げます。次号からは後任のTFさんに引き継ぎますので、引き続きよろしくお願いたします。(YS) 寒暖の激しい時期ですが、皆様、体調にお気をつけてお過ごしください。(NS)