



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」 2018度-2022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.5 Jun, 2019

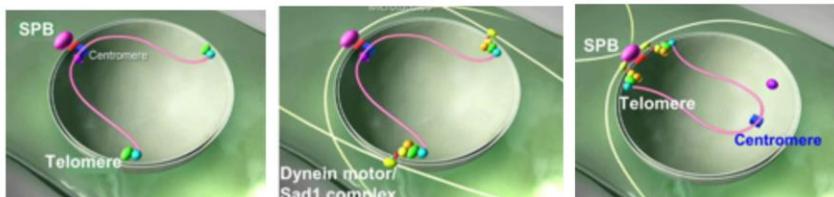
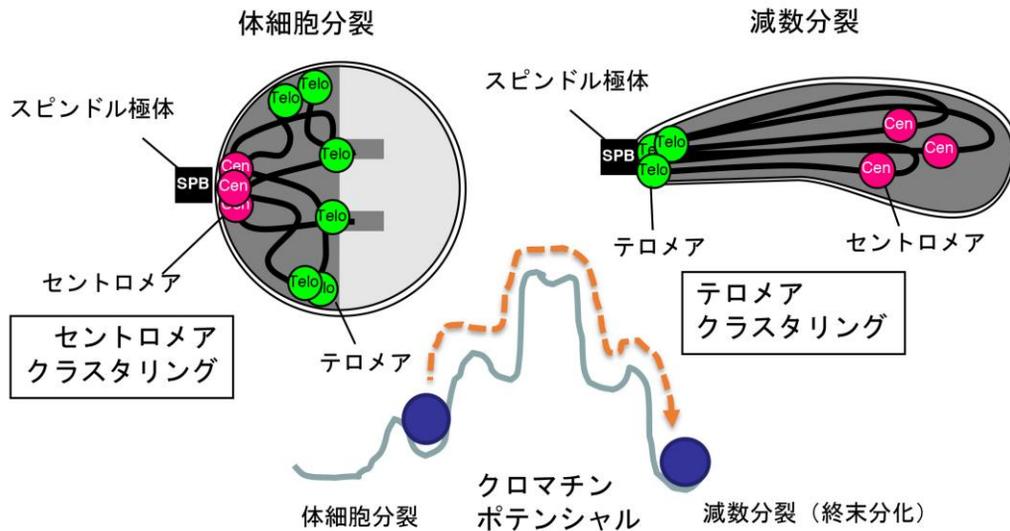
1. 計画研究紹介 (平岡 泰・胡桃坂 仁志)
2. ミーティングレポート
3. 成果紹介
4. 今後の予定

1. 計画研究紹介

『減数分裂における細胞核・クロマチン構造の変換メカニズム』

研究代表者：平岡 泰（大阪大学・生命機能研究科・教授）

減数分裂は、真核生物にとって普遍的で重要なプロセスです。ヒトでは卵子や精子のような配偶子を作る特殊な細胞分裂が減数分裂です。体細胞分裂から減数分裂に移行すると、セントロメアがクラスターした構造から、テロメアがクラスターした構造へと、クロマチンの空間配置が大きく変化することが知られています。また、それに伴って、クロマチンの構造も変化すると考えられています。本研究課題は、分裂酵母をモデル生物として、体細胞分裂と減数分裂におけるクロマチンの核内配置と構造を解析し、その変換メカニズムを解明します。特に、クロマチン核内配置・構造を変換・制御する要因として、核膜、非コードRNA、ヒストン修飾に着目し、これらの要因がどのように減数分裂クロマチン構造変換に影響を及ぼすか、その分子メカニズムを明らかにします。手法としては、分子遺伝学や超解像イメージングに加え、エピゲノム解析・プロテオミクス解析・理論モデル構築など、領域内での幅広い連携を駆使して研究を推進します。これらの解析により、減数分裂という終末分化過程においてクロマチンポテンシャルの制御メカニズムを理解します。



『ヌクレオソーム高次構造とダイナミクスの解析によるクロマチン潜在能の解明』

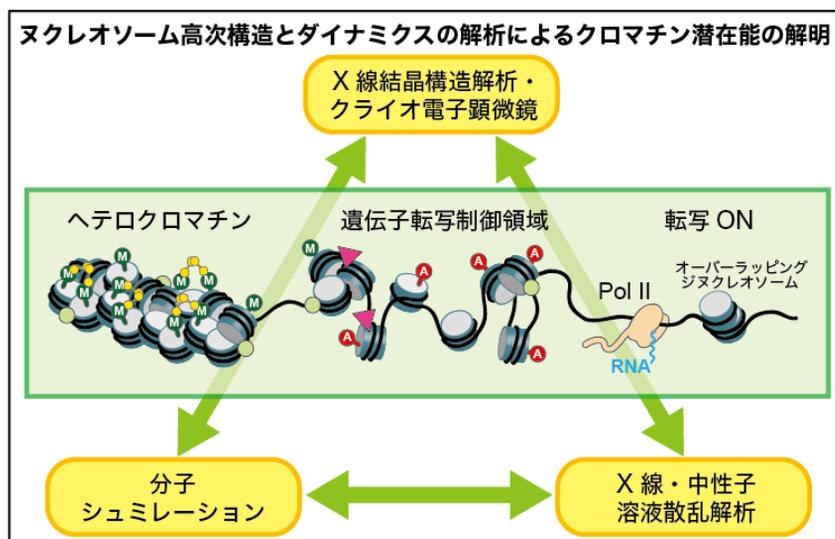
研究代表者：胡桃坂 仁志（東京大学・定量生命科学研究所・教授）

研究分担者：杉山 正明（京都大学 複合原子力科学研究所・教授）

河野 秀俊（量子科学技術研究開発機構・関西光科学研究所・
量子生命科学研究部・グループリーダー）

真核生物のゲノム DNAは、細胞核内においてクロマチンを形成しています。クロマチンの基本構造単位は、ヌクレオソームと呼ばれる構造体であり、4 種類のコアヒストンタンパク質(H2A, H2B, H3, H4)と約150塩基対のDNAから構成されています。ヌクレオソームは、リンカーDNAを介して数珠状に連なりポリヌクレオソームを形成しており、ヒストン結合タンパク質群やDNA結合タンパク質群、核内RNA群などのクロマチン結合因子群と結合することにより、多様な構造体を形成すると考えられています。さらに、ヒストンの翻訳後修飾、ヒストンバリエーションの導入、DNAのメチル化などのエピゲノム情報の変化は、ヌクレオソームそのものの構造や性質に影響を与えるとともに、クロマチン結合因子群との相互作用にも影響を及ぼすことで、クロマチン構造を大きく変動させます。

胡桃坂計画研究では、生体内の状態を反映したさまざまな機能的クロマチンを試験管内で再構成し、X線結晶構造解析、クライオ電子顕微鏡解析、溶液散乱解析および分子シミュレーションを併用することによって、それらの立体構造とダイナミクスを解析します。そして、ヌクレオソームの多様な高次構造とダイナミクスおよびその動作原理を解明することにより、ゲノムの複雑な遺伝子発現制御機構を司る“クロマチン潜在能”の解明を目指します。

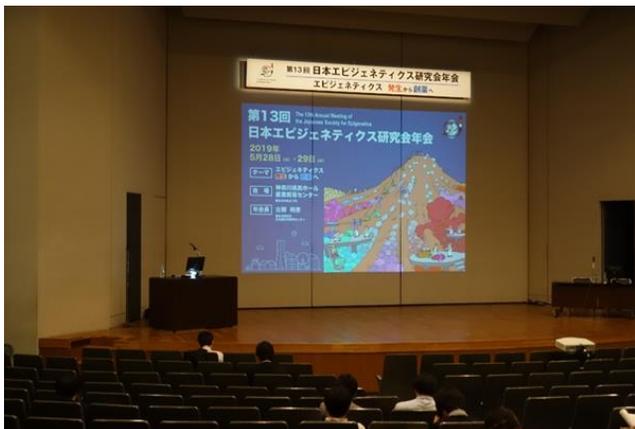


2. ミーティングレポート

■第13回日本エピジェネティクス研究会年会

2019年5月28日・29日に神奈川県民ホール・産業貿易センターにおいて、第13回日本エピジェネティクス研究会年会が開催されました。本領域からも紹介しきれないほど多くの先生方が参加されました。今年の研究会年会の基調テーマは「エピジェネティクス：発生から創薬へ」となっており、アメリカ、イギリス、中国からそのテーマにふさわしい演者が招待されました。個人的には、その中で最も印象に残ったのは、スクリプス研究所の新進気鋭の若手PI・Michael Erb博士の講演でした。その発表内容

は、「CRISPR/Cas9を使った順遺伝学的なスクリーニングから創薬ターゲットを見出し、そのターゲットの基質認識阻害の創薬妥当性を分子生物学的な方法で証明して見せ、さらには、自らHTSを実施してその基質認識阻害活性をもつ化合物を探し出し、その化合物を起点にメドケムまで行ってしまう」というものでした。私も製薬会社で創薬研究を行ってきた経験があり、こうした初期創薬に製薬企業がどれだけの人・時間・金を使っているかを知っているだけに、それをアカデミアで完結させてしまうその研究スタイルには、驚きしかありません。多くの製薬企業が経営戦略として企業研究所を縮小し、初期創薬をアカデミアなどの外部に任せる方向にシフトチェンジしてきている理由を肌身で感じられた瞬間でした。本領域からは、講演演者として胡桃坂先生が特殊ヌクレオソームの存在やヌクレオソームDNAからの転写機構についてとても美しい成果を紹介され、ユーモアを交えながらあわせて新曲の発表も行われました。年会全体を通しては、ゲノムインプリンティングについての発表が多かったように思います。一方で、ここ数年CNSを賑わせている相分離に触れた講演は一題のみでした。口頭発表は英語で行われ、質疑応答の時間も長くとられていましたが、それを感じさせないほど活発な議論が行われました。次回のエピジェネティクス研究会年会は、



年会会場。講演開始前の様子。



年会長を近藤豊先生が務められ、愛知県にて開催される予定です。会場で感じた熱を次回の年会に繋げられるように、私も日々楽しみながら研鑽を積んでいきたいです。

(産業技術総合研究所・新海陽一)

一般講演の座長を務めた
本領域の岸先生。講演直
前でも、余裕の笑顔。

3. 成果紹介

■原口徳子計画研究分担と平岡泰計画研究代表らの論文がGenes to Cells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。

Roles of Nup133, Nup153, and membrane fenestrations in assembly of the nuclear pore complex at the end of mitosis

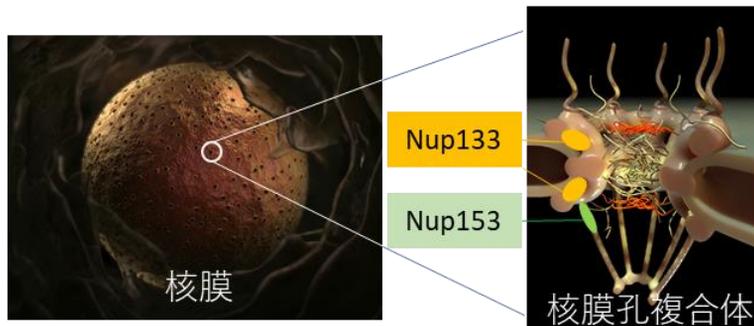
† Bilir Ş, Kojidani T, Mori C, Osakada H, Kobayashi S, Koujin T, * Hiraoka Y, * Haraguchi T. Genes to Cells. 2019 Feb 28. doi: 10.1111/gtc.12677.

<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/gtc.12677>

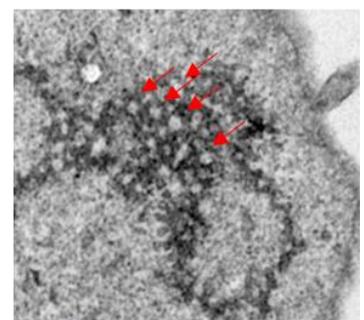
ゲノムDNAは、核膜と呼ばれる膜構造で覆われ、細胞質とは隔てられている。核膜には無数の孔（あな）状の構造が存在し、核と細胞質間の物質輸送はこの孔を通して行われる(図A)。この孔は、核膜孔複合体（約千個のタンパク質からできている細胞構造）と呼ばれるタンパク質集合体であり、核と細胞質間の輸送を制御している。ゲノム機能の維持には、この核膜孔複合体の正常な機能が重要である。

核膜孔複合体は、細胞が分裂するときには崩壊してバラバラになり、分裂が終了すると、核膜と共に、再構築される。しかし、どのように核膜孔複合体が再構築されるのか不明のままであった。本論文は、ヒト細胞の核膜孔複合体再構築の過程を、蛍光ライブセルイメージングとライブクレム法（ライブ蛍光電子相関法）と呼ばれる特殊な顕微鏡法を使って観察した。その結果、核膜孔複合体は、小胞体膜に無数に開いた「空っぽの孔」（fenestration）(図B)を利用して、その空孔を埋めるように構築されることを発見した。この発見は、従来考えられていた、核膜ができてから核膜孔が作られるというモデルや、染色体表面に核膜孔前駆体が形成された後に核膜が閉じるといったモデルとは異なるものであった。

A. 核膜と核膜孔複合体の構造



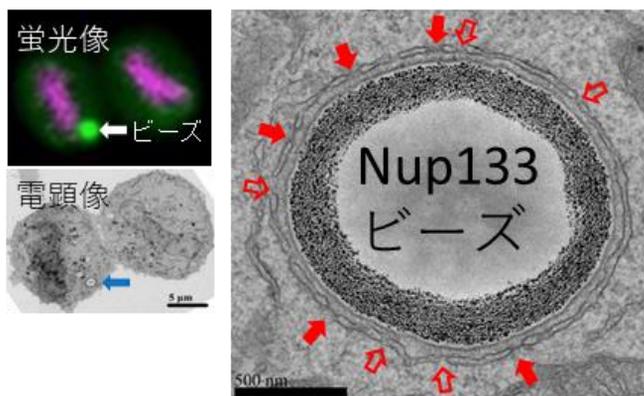
B. 膜の孔状構造



赤→部分が孔状構造

さらに、核膜孔複合体を構成するタンパク質が、核膜孔形成にどのような役割があるのか、人工ビーズを使った独創的な方法で調べた。人工ビーズに目的分子を結合させたものを生きた細胞内に導入し、そのビーズ周辺で（すなわち、目的分子の周辺で）起こる核膜孔再構築を調べるといふものである。この方法で、核膜孔構成タンパク質であるNup133あるいはNup153の働きを検討したところ、両者とも、核膜孔複合体に似た孔構造を膜上に集合させる能力があることが分かった（図C）。単独のタンパク質だけで、核膜孔複合体構造が（たとえ、その一部であっても）形成できることを示したのは、今回が初めてである。また、Nup133は膜を集合させる能力に長けており、Nup153はそれに比べて低かった。特に、Nup132は空孔を集める能力が高いことが分かった。さらに、Nup133とNup153は、それぞれ異なる核膜孔構成タンパク質を集合させることも明らかとなった。これらの結果から、小胞体膜にある多数の空孔にNup133が結合し、それに結合する核膜孔構成タンパク質が次々と集合することが分かった。

C. Nup133ビーズ上の核膜孔構造



➡ は核膜孔構造、⇔ は空孔構造

■平岡泰計画研究代表と原口徳子計画研究分担らの論文がJournal of Cell Science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。

The very-long-chain fatty acid elongase Elo2 rescues lethal defects associated with loss of the nuclear barrier function in fission yeast cells

† Kinugasa Y, Hirano Y, Sawai M, Ohno Y, Shindo T, Asakawa H, Chikashige Y, Shibata S, Kihara A, Haraguchi T, * Hiraoka Y.

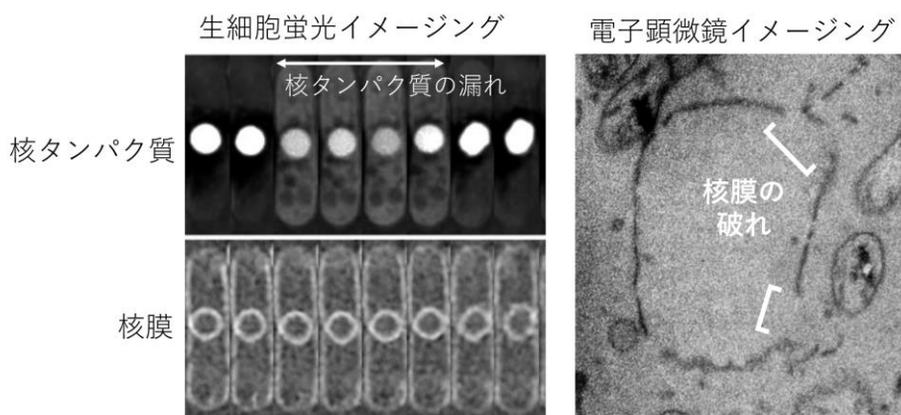
J Cell Sci. 2019 May 15. doi: 10.1242/jcs.229021.

<http://jcs.biologists.org/content/132/10/jcs229021>.

本論文は、超長鎖脂肪酸伸長酵素が、核膜構造の維持を通して、ゲノムの安定保持に重要な役割を果たすことを示した最初の論文である。

長鎖脂肪酸（炭素鎖が11から20までの脂肪酸）に対し、炭素鎖が21以上のものは超長鎖脂肪酸あるいは極長鎖脂肪酸と呼ばれる。超長鎖脂肪酸は、総脂肪酸の中のわずか数パーセントしか占めないが、長鎖脂肪酸には代替できない重要な働きがある。そのひとつが皮膚の主要な成分であるセラミド（スフィンゴシンと脂肪酸の化合物）を形成して皮膚バリアを形成することである。超長鎖脂肪酸は細胞内においても必須な働きをされると考えられていたが、その詳細はわかっていなかった。我々は、分裂酵母細胞を使って、細胞核構造とゲノム機能との関連を研究するなかで、超長鎖脂肪酸伸長酵素が核膜構造の維持に働くことを発見したので紹介する。

核膜は、ヒトなどの高等生物では、細胞周期の分裂期に崩壊し、細胞分裂が終わると再形成されることが知られている。しかし、一方、分裂酵母などの菌類では、核膜は、全細胞周期にわたって存在しており、分裂期でも崩壊・再形成は起こらない。従って、核タンパク質は、全細胞周期にわたって核内に留まることになる。ところが、分裂酵母の2つの核膜タンパク質Lem2とBqt4の両方を欠失させると、核タンパク質が細胞質に漏れ出してしまい、これが致死性の原因であった。核タンパク質が漏出している細胞を電子顕微鏡で観察すると、核膜に破れが見られた（図）。



分裂酵母Lem2Bqt4 二重欠損株



そこで、色々なタンパク質因子を発現させて、細胞が死ななくなる因子を探索したところ、Elo2タンパク質を発現すると、核タンパク質の漏れが減弱し、生育できるようになることがわかった。Elo2は、超長鎖脂肪酸の伸長に関与する酵素であり、生育に必須の働きをする。Elo2の酵素活性に影響するアミノ酸に変異をいれた変異体では生育を回復する効果はなかった。分裂酵母には、脂肪酸伸長酵素として、Elo1とElo2の2つが存在し、どちらも核膜に局在するが、今回の実験で示したElo2の働きは、Elo1では相補することができなかった。出芽酵母やヒトの同様の脂肪酸伸長酵素によってElo2欠損の致死性が相補され、生存できるようになったことから、この酵素は酵母からヒトまで機能が保存されていることがわかった。分裂酵母のセラミド組成を分析したところ、分裂酵母では、主要成分は炭素鎖24の飽和脂肪酸から成るセラミドであることがわかったが、このセラミドはLem2を欠失すると量が減少し、Elo2を発現させると増加することを確認した。Lem2が欠失した細胞では、核膜の異常に加え、セントロメアヘテロクロマチン形成が低下し、ミニ染色体を落としやすくなるという異常がでる。Elo2を過剰発現すると、ミニ染色体の異常は抑えられることがわかった。これらのことから、Elo2の酵素活性が、核膜構造の維持およびゲノムの維持に重要であると結論した。これまで、核膜を構成する脂質成分についてはほとんど知見がなく、超長鎖脂肪酸の役割も不明であったが、この研究により、核膜の脂質についての理解が初めて得られると同時に、ゲノム維持に対する超長鎖脂肪酸の重要性が明確となった。

この論文はResearch Highlight で紹介された。

http://jcs.biologists.org/content/132/10/e1004?utm_source=TrendMD&utm_medium=cpc&utm_campaign=J_Cell_Sci_TrendMD_0

また、第一著者がFirst Person（著者紹介）でも取りあげられた。

<http://jcs.biologists.org/content/132/10/jcs233585>



■山縣一夫計画研究代表と原口徳子計画研究分担，平岡泰計画研究代表らの論文が 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。

Nuclear formation induced by DNA-conjugated beads in living fertilized mouse egg

† Yuka Suzuki, Şükriye Bilir, Yu Hatano, Tatsuhito Fukuda, Daisuke Mashiko, Shouhei Kobayashi, Yasushi Hiraoka, * Tokuko Haraguchi, * Kazuo Yamagata
Sci Rep. 2019 June 11. doi.org/10.1038/s41598-019-44941-6
<https://www.nature.com/articles/s41598-019-44941-6>

初期胚発生の過程で、細胞核が「どの因子によって」形成され、そして機能を獲得するかを知るためには、核の“タネ”となる因子を初期胚内に導入することで「人工核」を造りだし、その構造や機能を、天然核のそれと比較する方法が有効である。それによって、特定の因子で何ができて、何ができないのか理解することができる。本論文は、DNAを結合させた微小ビーズ（DNAビーズ）を生きたマウス受精卵の細胞質内に導入し、そのDNAビーズを“タネ”として人工的な細胞核様構造を造り出すことに世界で初めて成功したものである。

細胞核は、細胞分裂のたびに、崩壊と再構築を繰り返す動的な細胞構造である。しかし、その精巧な構造体が、いかにして毎回規則正しく形成され、機能性を獲得するようになるのか、その仕組みを担う重要な因子・要素を明らかにした報告はほとんど無かった。本研究では、マウス受精卵をモデルにして、細胞核形成に必要な既知の材料を生きたマウス受精卵の細胞質内に導入し、その材料に細胞が応答して、人工的な細胞核が構築される過程を「生きたまま」観察することを試みた。具体的には、既知の材料として、直鎖状のプラスミドDNA（8 kbpの大きさ）を結合させたDNAビーズを細胞質内に導入し、その周囲でどのような生命現象が起こるかを観察した（図1）。

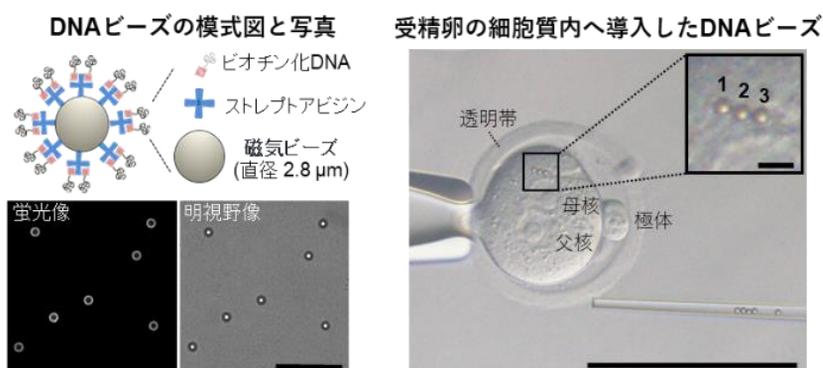


図1: マウス受精卵に導入したDNAビーズ: 末端がビオチン化された直鎖上プラスミドDNA (pGADT7) をストレプトアビジンビーズに結合させた。蛍光像はHoechst33342による。右図は、マイクロマニピュレーターによりマウス前核期受精卵に導入されたDNAビーズを示す。

その結果、第一分裂の分裂期から2細胞期にかけて、DNAビーズ周囲には、全てのコアヒストンタンパク質（H2AとH2B、H3、H4）が集積することが分かった。また、ヌクレオソームに結合するRCC1タンパク質も同時期にDNAへの集合が見られたことから、導入したDNAはヌクレオソーム構造が形成されていると判断した。さらに、DNAビーズ周辺の膜構造を、電子顕微鏡を用いて観察したところ、天然核の核膜および核膜孔構造と極めて類似した膜構造が形成されていることが分かった（図2）。これらの結果から、DNAビーズ周辺に「人工核」が形成されたと判断した。面白いことに、この人工核をもつマウス受精卵を、母マウスの子宮に移植したところ、正常な仔マウスが産まれることを確認した。

しかし、この「人工核」には、細胞質から核内へタンパク質を運ぶ核移行活性が備わっていなかった。この結果は、受精卵に（核移行能をもつ）機能的人工核を構築するためには、DNAビーズ以外の因子の存在も必要であることを示している。今後は、不足する因子をDNAビーズに付与することで、核移行能をもつ人工核の構築を目指したい。

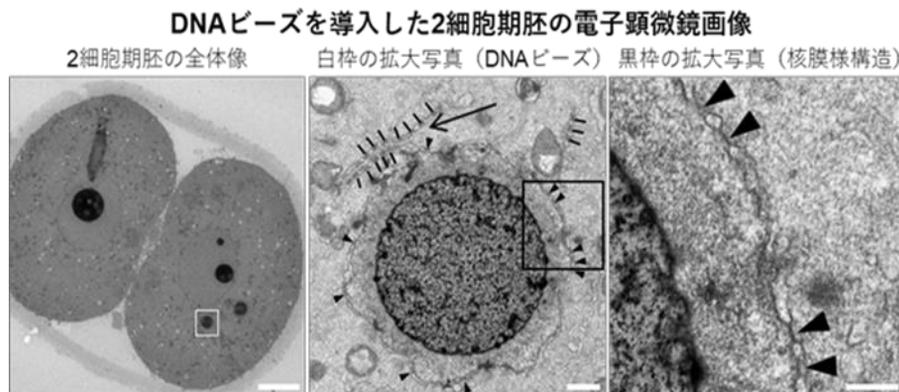


図2：電子顕微鏡写真：DNAビーズ周囲に天然核と類似した核膜や核膜孔構造が観察された。

本論文は以下のメディアに取り上げられた。

朝日新聞デジタル

https://www.asahi.com/and_M/pressrelease/pre_3044233/

NHK総合和歌山

<https://www3.nhk.or.jp/lnews/wakayama/20190618/2040002960.html>

4. 今後の予定

■ 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20日(木)-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（基生研）、小布施力史（阪大）

■ International Symposium for Female Researchers in Chromatin Biology 2019/EMBO Laboratory Leadership Training Course

当領域共催シンポジウム

日 時： 2019年6月23日(日) 9:00-

会 場： 理化学研究所 生命機能科学研究センター（BDR）
（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)

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

■ 第19回 日本蛋白質科学会年会/第71回 日本細胞生物学会大会 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）、遠藤 斗志也（京産大）

事前参加登録締め切り： 2019年5月15日(水) 17:00

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

当領域共催シンポジウム

「クロマチン・細胞核コンテキストの転写制御ポテンシャル（2SEa）」

日 時： 2019年6月25日(火) 8:45-11:15

オーガナイザー： 斉藤 典子（がん研）、河野 秀俊（量研）

4. 今後の予定～続き

■第30回 細胞生物学ワークショップ（蛍光顕微鏡トレーニングコース1）

日 時： 2019年7月29日(月)-8月2日(金)

会 場： 情報通信研究機構、未来ICT研究所

住 所： 神戸市西区岩岡町岩岡588-2

講 師： 原口徳子(情報通信研究機構)、平岡泰（阪大）、木村宏（東工大）

受講対象者： 全国の大学院生・若手研究者

参加申し込み締め切り： 6月27日(木)

Homepage： <http://www2.nict.go.jp/frontier/seibutsu/CellMagic/index.html>

<http://www.fbs.osaka-u.ac.jp/jpn/seminar/workshop/workshop-20190729/>

<https://www.lfsci.hokudai.ac.jp/info/3009.html>

<http://www.nibb.ac.jp/abis/training/tr20190729>

■第57回 生物物理学会年会

日 時： 2019年9月24日(火)-26日(木)

会 場： 宮崎県・シーガイアコンベンションセンター

年会長： 永井 健治（阪大）

事前参加登録受付：2019年4月22日(月)-6月21日(金)

Homepage： <https://www2.aeplan.co.jp/bsj2019/kaisai.html>

当領域共催シンポジウム

「遺伝子制御の原理に迫るクロマチン動態の物理学 Physics of chromatin dynamics – towards understanding the regulation of gene expression」

日 時： 2019年9月24日(火) 8:30-11:10

会 場： E会場

オーガナイザー： 伊藤由馬（東工大）、木村暁（遺伝研）

4. 今後の予定～続き

■第42回 日本分子生物学会年会

日時： 2019年12月3日(火)-6日(金)

会場： 福岡国際会議場、マリンメッセ福岡

年会長： 佐々木裕之（九大）

演題登録受付： 2019年7月1日(月)-7月31日(水) 17:00

事前参加登録受付： 2019年7月1日(月)-10月11日(金) 17:00

Homepage: <https://www2.aeplan.co.jp/mbsj2019/>

当領域共催ワークショップ

1. 「遺伝子の発現されやすさはどのように決まるのか？

～クロマチンが規定する遺伝子発現制御能力～ (4W-19) 」

日時： 2019年12月6日(金) 13:00-15:30

会場： 第19会場（マリンメッセ福岡 2F 「大会議室」）

オーガナイザー： 大川 恭行（九大）、胡桃坂 仁志（東大）

当領域研究者によるワークショップ

1. 「染色体DNA複製研究のニューフロンティア(2PW-04) 」

日時： 2019年12月4日(水) 15:45-18:15

会場： 第4会場（福岡国際会議場 4F 「401-403」）

オーガナイザー： 正井 久雄（東医研）、荒木 弘之（遺伝研）

2. 「多層的ゲノム構造が制御する遺伝情報の流れ (2PW-08) 」

日時： 2019年12月4日(水) 15:45-18:15

会場： 第8会場（福岡国際会議場 4F 「412」）

オーガナイザー： 岩崎 由香（慶大）、佐々木 浩（Harvard Univ）

3. 「細胞核を造る -機能的な核の再構成を目指して- (3PW-17) 」

日時： 2019年12月5日(木) 15:45-18:15

会場： 第17会場（福岡サンパレスホテル&ホール 2F 「パレスルームB」）

オーガナイザー： 山縣 一夫（近大）、原口徳子（情報通信研究機構）

編集後記：虹色の配色を目指して、これで5色目です。学会や、アウトリーチ活動、業績報告続々と情報が寄せられていて、編集者にとってはうれしい限りです。今後とも、ご協力のほどよろしくお願いたします。(TF)

梅雨に入りましたがいかがおすごでしょうか。NL担当は、公募班参加、NHKスペシャルやマンモスの話題、各班からの論文採択のお知らせなどをいただき、日々活況に触れています。ありがたいのひとつことです。(NS)