



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年度-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.21 Apr, 2023

1. 新学術領域「クロマチン潜在能」終了にあたって
木村宏領域代表
2. ミーティングレポート
3. 成果紹介

1. 新学術領域「クロマチン潜在能」終了にあたって 木村宏領域代表



5年前に始まった本領域は、遺伝子発現の制御機構の解明に正面から取り組むものでした。領域の申請書の「学術的または社会的意義・波及効果等」の冒頭には以下のように記述しました。「遺伝子制御機構の解明は、生物システムを理解する上で、最も重要な学術的課題のひとつである。従って、クロマチン構造のもつ「クロマチンポテンシャル」という概念を提示し、その実体を解明することができれば、学術的な価値は極めて高い。生命活動の根本的な理解は、全人類の共通の財産として、知的好奇心を満たすと同時に、新しい発想を生む礎となる。」この後には、細胞治療や再生医学の発展などにも波及効果があるという文言が続くのですが、基本的なスタンスとしては、生命現象の理解のための基礎研究であるということを強調しました。このような領域の重要性を認めていただいたことに感謝しています。

領域の活動として、共同研究の推進、若手の育成、国際活動による発信力とネットワークの強化などを掲げていましたが、COVID-19パンデミックが重なり、これらが十分にできなかったことは残念でした。オンラインミーティングでも継続中の共同研究は進めることはできたのですが、新しい共同研究が生まれるのには対面での直接ディスカッションに勝るものはありません。実際、若手の交流会は、領域の最初と最終年度になんとか開催することができ、大いに盛り上がりました。若手の成長や共同研究への発展が期待できます。国際的には、世界的な“ヌクレオーム”研究の盛り上がりとエピゲノム・オミクス解析技術の発展の中にあって、直接の交流が難しい時期もありました。ミーティングがオンライン化したことにより、移動の時間とコストは抑えられたものの、時差の問題が改めて浮き彫りになったと思います。

このような状況の中、クロマチンポテンシャルという概念とその実証に近づくような大きな研究成果も生まれました。クロマチンを介した転写のダイナミクスが分子構造レベルから細胞核のレベルで明らかにされた他、ヒストン修飾やノンコーディングRNAの転写活性化や抑制への役割、クロマチン高次構造の発生・分化におけるダイナミクスも明らかにすることができました。1細胞解析のための技術開発も進み、空間オミクス技術への発展や生細胞イメージングとの融合も進んでいます。これらの多くは、領域内共同研究の成果です。具体的な数値は2023年度中に公開予定の成果取りまとめで詳しくご報告する予定ですが、多くの論文が出版され、若手研究者の活躍も支援することができました。

「クロマチン潜在能」領域はこの3月をもって終了しましたが、クロマチンや遺伝子制御機構は非常に奥が深く、研究はまだまだ続きます。引き続きよろしくお願いいたします。

2023年4月

領域代表 東京工業大学・科学技術創成研究院・細胞制御工学研究センター 木村 宏

2. ミーティングレポート

■ International Symposium for Female Researchers in Chromatin Biology 2022

「クロマチン生物学における女性研究者のための国際会議2022」(オーガナイザー、岡田由紀(東大)、斉藤典子(がん研)、平谷伊智朗(理研BDR)、木村宏(東工大))が、2022年12月5日(月)(日本標準時間:17:00-20:00)の日程で、Zoomによるオンラインミーティングとして行われました(図1)。このミーティングは、新学術領域「クロマチン潜在能」(代表:木村宏)などが中心となり、女性研究者を支援する目的で開催されたものです。




図1.国際シンポジウムの様子

この会議では、招待講演者である海外の著名な女性研究者4名(Marnie Blewitt(オーストラリア)、Agnese Loda(ドイツ)、Maria Elena Torres-Padilla(ドイツ)、Wendy Bickmore(英国))に加えて、応募した女性研究者の中から数名が選ばれて、クロマチン生物学に関する最新の成果を発表しました。発表したのは、私、林-高中陽子(大阪大学、日本)と、Astari Dwiranti(インドネシア大学、インドネシア)、野澤加代(東京工業大学、日本)、鈴木雅子(Albert Einstein College of Medicine, 米国)の4名(図2)です。招待講演者のMarnie Blewittは参加できず、代わりに、オーガナイザーのひとりである斉藤典子さんが発表されました。



図2.ショートトークで発表した女性研究者

発表内容は、招待講演者による、がん細胞におけるノンコーディングRNAの役割(斉藤典子)、不活性X染色体の形成と胚発生(Agnese Loda)、DNA複製におけるフォークスピードと胚発生(Maria Elena Torres-Padilla)、染色体外環状DNAと癌(Wendy Bickmore)に関する研究内容が報告されました。どの発表も、世界の第一線で活躍する大御所ならではの素晴らしい研究内容で、大変興味深く、聞き応えがありました。また、日本からは、複製メカニズム(林-高中)、クロマチン構造(Dwiranti、野澤)、エピジェネティクス制御に関わる環境因子や栄養学的因子(鈴木)など、クロマチン生物学に関する幅広い演題が提供されました。また若手研究者を含めて活発な質問応答が行われたことも印象的でした。



私にとっては、国際会議で英語での発表は10年以上ぶりで、ドキドキものでしたが、無事に発表を終えることができほっとしました。多くの質問を頂いたのも嬉しかったです。今回、発表する機会を頂き、ありがとうございました。また国内外で活躍する女性研究者の話は、私にとって刺激的で、今後、研究者としてのキャリアを続けていく上で、彼らの話は、とても励みになりました。最後になりましたが、コロナ禍になり、海外に行く機会が減っている中、海外の研究者の方々と交流する機会を与えて下さったことに、オーガナイザーや関係者の皆さまに、心より感謝します。

(大阪大学・平岡研・林-高中陽子)



3. 成果紹介

■落合研究分担、木村領域代表、大川研究分担による成果がNature Communications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。

STREAMING-tag system reveals spatiotemporal relationships between transcriptional regulatory factors and transcriptional activity

† Ohishi H, Shimada S, Uchino S, Li J, Sato Y, Shintani M, Owada H, Ohkawa Y, Pertsinidis A, Yamamoto T, *Kimura H, *Ochiai H.

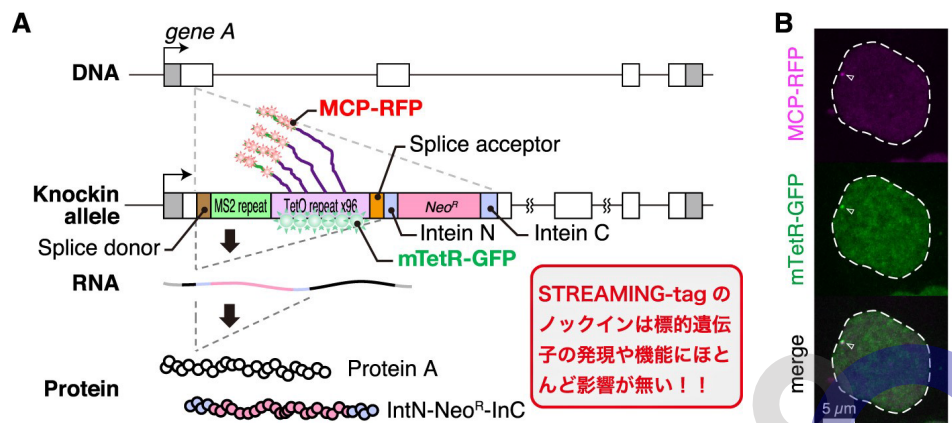
Nat Commun. 2022 Dec 20. doi: 10.1038/s41467-022-35286-2.

<https://www.nature.com/articles/s41467-022-35286-2>

遺伝子が転写される場合、連続的に転写されるON状態と、ほとんど転写されないOFF状態が断続的に切り替わることが近年明らかとなってきた。これまで、ON状態の遺伝子領域の周辺に、転写に関連する因子が集まる様子が観察されてきたが、OFF状態でのタンパク質因子との関係性は不明なままであった。

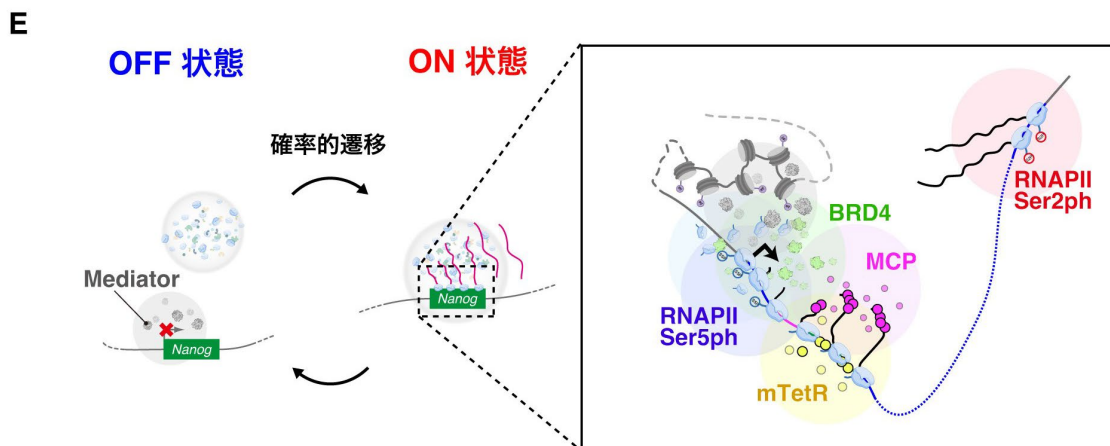
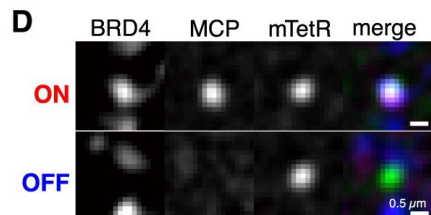
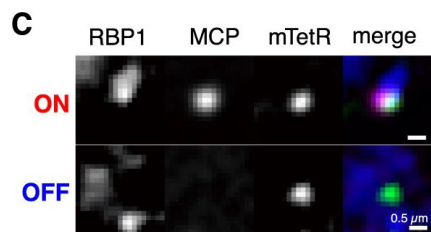
そこで本研究では、遺伝子の機能を阻害することなく、特定遺伝子の細胞核内局在および転写状態を可視化できる技術、Spliced TetO REpeAt, MS2 repeat, and INtein sandwiched reporter Gene tag (STREAMING-tag)システムを確立した(図A)。従来の遺伝子の転写活性を計測する方法では、ON状態のみを検出するため、OFF状態では遺伝子が細胞内のどこにあるのかが可視化できなかった。本技術ではOFF状態でも遺伝子の場所を把握できるため、OFF状態においてどのようなタンパク質因子が近傍に集積しているのかを調べることができる。また、STREAMING-tagシステムでは、転写が開始されてまもなくの状態の遺伝子の細胞核内局在を把握することができる。従来技術で用いられている「タグ」はタンパク質の翻訳に悪影響を与えることが知られており、遺伝子の最も下流の最終的にタンパク質に翻訳されない領域に挿入されることが一般的であった。そのため、実際にRNAポリメラーゼIIによって転写が開始してから、「タグ」によって転写活性が可視化されるためには時間的なズレがあり、実際に転写開始した際の遺伝子周辺の状況を把握できないという問題があった。

STREAMING-tagでは、挿入による遺伝子機能の阻害効果を最小限に抑えることで、RNAポリメラーゼIIによって転写が開始される領域周辺に挿入することができ、転写がONになった直後の様子を観察できる(図B)。



本システムを適用したマウス胚性幹細胞で、RNAポリメラーゼII (RPB1) と、転写活性化に重要な役割を担っているコアクティベーター (BRD4)、メディエーター (MED19、MED22) を蛍光タンパク質で標識し、生細胞イメージングを実施した。その結果、RPB1とBRD4タンパク質は、ON状態の遺伝子の近傍でのみ集積することがわかった (図C、D)。一方で、MED19およびMED22に関しては、ON状態OFF状態関係なく、遺伝子の近傍に集積することが明らかとなった。これら因子のクラスター化が動的な転写を制御している可能性が示唆された。また、MED19およびMED22に関しては、転写活性に関わらず遺伝子の近傍でクラスターを形成することが明らかとなり、OFF状態において、新たにRPB1やBRD4のクラスター形成の足場となる可能性が示唆された (図E)。

STREAMING-tagシステムは様々な細胞種や遺伝子、生物種に応用が可能である。本技術を用いることで、複雑で動的な転写発現制御の基本原則を明らかにすることが可能となり、生物の発生や分化、また、様々な疾患発症機構の解明などに役立つことが期待される。



■柴田幹大公募研究代表、胡桃坂仁志計画研究代表らの論文がNano Letters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。

High-Speed Atomic Force Microscopy Reveals Spontaneous Nucleosome Sliding of H2A.Z at the Subsecond Time Scale

† Morioka S, Sato S, Horikoshi N, Kujirai T, Tomita T, Baba Y, Kakuta T, Ogoshi T, Puppulin L, Sumino A, Umeda K, Kodera N, Kurumizaka H, *Shibata M.

Nano Lett. 2023 Feb 13. doi: 10.1021/acs.nanolett.2c04346.

<https://doi.org/10.1021/acs.nanolett.2c04346>

本研究は、遺伝子発現制御に重要なヒストンタンパク質H2A.Zを含むヌクレオソームが、わずか0.3秒の時間スケールでDNAに沿って移動する「ヌクレオソームスライディング」の様子を高速原子間力顕微鏡（高速AFM）を用いて世界で初めて撮影することに成功した。

真核生物では、ヒストンバリエーションなどのエピゲノムが、生命の本質ともいえる遺伝子発現の制御に重要な役割を担っている。ヒストンバリエーションの一種であるH2A.Zは、遺伝子の転写活性領域と抑制領域の両方に高度に集積すること、また、その遺伝子欠損マウスはほとんどが生存できないという実験事実から、生体内で非常に重要な役割をもつことが知られている。しかしながら、H2A.Zが遺伝子発現の制御に活性（プラス）にも抑制（マイナス）にもはたらく、その分子作動メカニズムはほとんど分かっていなかった。そこで本研究では、精製したH2A.ZとDNAをもとに、H2A.Zを含むヌクレオソームを試験管内で再構成し、その1秒以下のナノ動態を高速AFMを用いて直接可視化することを試みた。その結果、H2A.Zを含むヌクレオソームが、自発的に0.3秒以内の時間スケールでDNAに沿って移動すること（ヌクレオソームスライディング）を発見した（図1）。

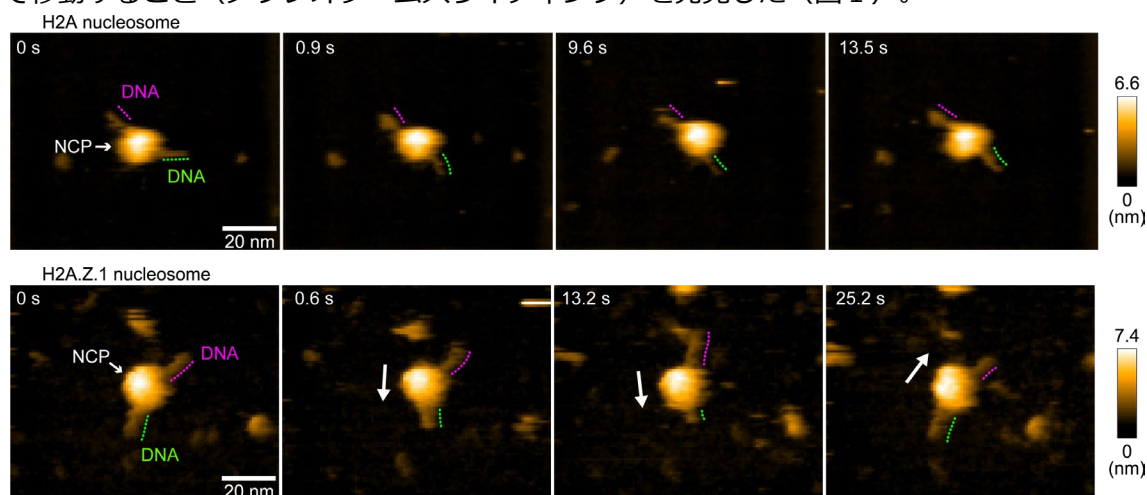



図1.高速AFMで観察したヌクレオソームスライディング

（上図）主要型H2Aを含むヌクレオソームの連続した高速AFM画像。

（下図）H2A.Zを含むヌクレオソームの連続した高速AFM画像。1フレーム0.3秒で撮影。高速AFMの映像から、H2A.Zヌクレオソームの球状（ヒストン八量体）の部分が、ひも状に見えるDNA上に沿って自発的にスライディングをする様子を可視化した。原著論文では、このスライディング現象を動画で見ることができる。



さらに、H2A.Zのアミノ酸残基を主要型であるH2Aのアミノ酸残基へ入れ替えた変異体にも高速AFMを適用することにより、H2A.ZのN末端に位置するアミノ酸残基がこのヌクレオソームスライディングに関与していることを明らかにした。

今回の研究では、ヌクレオソームのダイナミクス観察という観点において、エピゲノムによる遺伝子発現制御の分子作動メカニズムの一端を明らかにした。この高速AFMによるヌクレオソームのナノ動態観察は、今後、遺伝子発現制御の分子メカニズムに対して新しい知見を提供することが期待される。


この成果は、金沢大学ナノ生命科学研究所のサイトで紹介されました。

「遺伝子発現制御に重要なヒストンを含むヌクレオソームが1秒以内にDNA上をスライディングする現象を発見！」

<https://nanolsi.kanazawa-u.ac.jp/achievements/achievements-22536/>

編集後記：WBC日本優勝、世界フィギュアスケートでも日本勢大活躍、と明るいニュースが続いています。さて、これまでニュースレターに貴重な記事を寄稿くださった領域の先生方、そして編集者の藤田知子さんに感謝いたします。(NS)。

5年にわたる領域活動中、多くの先生方、学生の方、たくさん原稿を寄せていただいたおかげで、21号まで発行することができました。大変ありがとうございました。この経験(持続力)を生かし、研究に励みたいと思います(TF)。



4. 今後の予定

■第16回 エピジェネティクス研究会年会

日 時： 2023年6月19日(月)-20日(火)

会 場： 学術総合センター・一橋講堂（東京都千代田区一ツ橋 2-1-2）

年会長： 油谷 浩幸（東京大学）

事前参加登録： 2023年4月30日(日) 18:00 前期登録締め切り

2023年5月14日(日) 18:00 後期登録締め切り

Homepage： <http://square.umin.ac.jp/jse2023/index.html>

■第75回 日本細胞生物学会大会

日 時： 2023年6月28日(水)-30日(金)

会 場： 奈良県コンベンションセンター（奈良県奈良市三条大路1丁目691-1）

大会長： 吉森 保（大阪大学）

事前参加登録受付： 2023年2月6日(月)-5月17日(水)

Homepage： <https://synonis.com/jscb2023>

当領域研究者によるシンポジウム

「「観る」を通して築いた軌跡と若手研究者へのメッセージ」

講演者：平岡 泰（大阪大学）、原口 徳子（大阪大学）、

宮脇 敦史（理化学研究所）、川野 竜司（東京農工大学）

■第96回 日本生化学会大会

日 時： 2023年10月31日(火)-11月2日(木)

会 場： 福岡国際会議場・マリンメッセ福岡B館（福岡県福岡市博多区石城町 2-1）

会 頭： 住本 英樹（九州大学）

演題登録受付： 2023年5月10日(水)-6月16日(金)

事前参加登録受付： 2023年5月10日(水)-8月31日(木)

Homepage： <https://www2.aeplan.co.jp/jbs2023/>



■ 第46回 日本分子生物学会年会

日 時： 2023年11月27日(月)-12月1日(金)

会 場： 神戸国際会議場、神戸国際展示場、神戸ポートピアホテル + オンライン併用
(兵庫県神戸市中央区港島中町6-9-1, 6-11-1, 6-10-1)

年会長： 林 茂生 (理化学研究所)

演題登録受付： 2023年7月3日(月)-7月31日(月) 17:00

事前参加登録受付： 2023年7月3日(月)-10月10日(火) 17:00

Homepage: <https://www2.aeplan.co.jp/mbsj2023/index.html>

当領域研究者による指定シンポジウム

「遺伝子制御ダイナミクスの解明：イメージングからシングルセルオミックスへ、そしてその先へ」
オーガナイザー： 大川 恭行 (九州大学)、Timothy Stasevich (Colorado State University)

