

機関番号：12608

領域設定期間：2018.06.29 ~ 2023.03.31

領域番号：7003

研究領域名（和文） 遺伝子制御の基盤となるクロマチンポテンシャル

研究領域名（英文） Chromatin potential for gene regulation

領域代表者

木村 宏 (KIMURA Hiroshi)

東京工業大学・科学技術創成研究院・教授

研究者番号：30241392

交付決定（予定）額（領域設定期間全体）：（直接経費）1,181,500,000円

研究の概要

遺伝子発現の制御は生命現象の基盤であり、その解明は生物学にとって最重要課題の一つである。遺伝情報を担うDNAは、ヒストンなどのタンパク質やRNAと結合した“クロマチン”として細胞核に存在しており、その核内配置や翻訳後修飾は、遺伝子発現の抑制や活性化に重要であることが明らかになってきた。本研究では、クロマチンが潜在的に持つ遺伝子制御能力を「クロマチンポテンシャル」という新しい概念で捉えて、その実体を明らかにすることを目的としている。本研究により、遺伝子発現制御の普遍的メカニズムの理解が大きく進めば、細胞運命の予測や細胞機能の自由自在な制御・設計に道を拓くと考えられる。これまでに、独自開発した生細胞イメージングを用いてゼブラフィッシュ胚発生を観察し、ヒストン H3K27 のアセチル化が転写に先立っておこることが、その後の転写活性化に極めて重要であることを発見した。そして、このヒストン修飾が、転写クロマチンポテンシャルの実体であることを証明した。また、単一細胞でクロマチンコンパートメントを解析する技術を開発し、細胞分化に伴うクロマチン構造変化を明らかにした。さらに、細胞核に存在するRNAを含んだ構造体が、がん細胞に特徴的な遺伝子発現の制御や減数分裂時の相同染色体対合に必要であることを明らかにした。さらに、再構成的アプローチとして、DNA ビーズを受精卵に導入し、ビーズ周辺に天然核と類似した構造をもつ人工核を構築することに成功した。クライオ電子顕微鏡などを用いて原子・分子レベルで構造解析を行い、再構成クロマチンの構造とダイナミクスを明らかにした。これらの研究の多くは領域内共同研究の成果であり、今後も領域内連携を強化してクロマチンポテンシャルの実体解明にあたる。

研究分野：生物学

キーワード：クロマチン、遺伝子発現制御、エピジェネティクス

1. 研究開始当初の背景

多細胞生物で一つの個体を構成する全ての細胞は基本的に同一のDNA塩基配列を持つが、個々の細胞で異なる遺伝子が発現することにより、異なる形質を持つようになる。遺伝子発現の制御は、発生・分化のみならず、ほとんど全ての生命現象の基盤であり、そのメカニズムの解明は生物学の最重要課題の一つであるといえる。真核生物の細胞核DNAはヒストンとともにヌクレオソーム構造を形成し、それが集まってクロマチンを形成しており、最近、遺伝子発現の制御にこのクロマチンの構造が重要であることがわかってきた。しかし、実際に生きた細胞の中でどのように遺伝子が制御されるのか、という問題はまだ未解明であり、国際的にも大きな課題として残されている。それは、生細胞でのクロマチン状態を計測する技術がほとんど無かったことによる。本領域では、独自に開発した計測技術を用いて、この問題に答えていく。

2. 研究の目的

本研究は、クロマチンが潜在的に持つ遺伝子制御能力を「クロマチンポテンシャル」という新しい概念で捉えて、その実体を明らかにすることを目的とする（図1）。つまり、不活性化状態や待機状態にあるクロマチンがどのように形成され、それらがどのように“転写され易さ”を規定す

るのかということ定量的に明らかにすることで、遺伝子発現制御のメカニズムを理解する。

クロマチンポテンシャルの実体解明により、クロマチン状態から発現が予測できるようになることを目指している。これにより、遺伝子発現制御の普遍的メカニズムの理解に大きく貢献し、さらに、細胞運命の予測や細胞機能の制御に道を拓くことができると考えている。また、本研究によって得られる計測・定量データは、学術的にも、発現制御の理論構築や細胞核のモデリングなどに貢献できる。

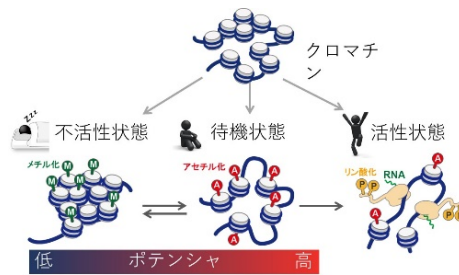


図1. クロマチンポテンシャルの概念図

3. 研究の方法

クロマチンの状態は様々な階層で制御される。例えば、ヒストンの翻訳後修飾やバリエーション置換、凝縮状態、クロマチンドメインや核内コンパートメント、核内構造体との相互作用、あるいは、細胞核内の物理的要因などである(図2)。そこで、本領域ではそれぞれの階層における専門性と高度な解析技術を持つ研究者を結集して、研究を進めている。これらのクロマチン状態と転写との因果関係を示す定量データが現在圧倒的に不足しているため、本領域では、計測を最も重視する。各階層でのクロマチン状態と転写の計測を行い、また、クロマチン構造の再構成や理論モデルの構築を行いながら、それぞれの階層の重要な因子の同定や転写制御への寄与度合いを明らかにする。特に、遺伝子発現が大規模に変化する初期胚発生や細胞分化に着目し、クロマチンポテンシャルの解明を目指す。

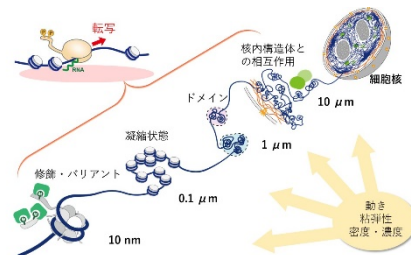


図2. クロマチンポテンシャルを規定する様々な階層

4. 研究の進展状況及び成果

本研究では、以下の3つの項目を立てて研究を推進しているが、各項目とも中間評価までの目標を達成しており、進捗状況は極めて良好である。

(1) ユークロマチンとヘテロクロマチンの顕在化に伴うクロマチンポテンシャル変化の分子機構の解明

エピゲノムと転写活性を生きた細胞で同時可視化・定量化するイメージング法を利用して、ヒストン H3K27 のアセチル化 (H3K27ac) が、転写活性化に先だって起こり、転写活性化に必須であることを明らかにした[1]。この成果は、ヒストン H3K27ac 修飾が、転写活性化のクロマチンポテンシャルの実体であることを証明するものである。

1 細胞のエピゲノム情報をゲノムワイドに取得できる方法の開発を進め、1~100 個程度の少数細胞から、ヒストン修飾の局在解析ができる「クロマチン挿入標識 (ChIL)」法を開発した[2, 3]。また、1 細胞全ゲノム DNA 複製解析法 scRepli-seq を開発し [4]、分化における染色体構造変化の実体が、A/B コンパートメントの境界に存在するトポロジカルドメインの配置変化であることを突き止めた[5]。さらに、1 細胞 RNA-seq により転写バーストを制御する因子として、ヒストン H3K27 のメチル化酵素複合体や転写伸長関連因子を同定した[6]。

ヘテロクロマチン形成に重要なヒストンメチル化酵素 SETDB1 と複合体を形成する核タンパク質 ATF7IP が、クロマチンの“遺伝子不活性化”状態を維持する因子であることを明らかにした[7]。また、ヒストンメチル化酵素複合体 CLRC が H3K14 を優先的にユビキチン化すること、H3K14ub がヒストンメチル化酵素 Clr4 の H3K9 メチル化活性を促進することを明らかにした[8]。

(2) 細胞核構造・RNA ボディとの相互作用によるクロマチンポテンシャルの時空間制御の理解
再発乳がんにおいて、エレノア非コード RNA が、巨大クロマチンドメイン内の全ての遺伝子を転写活性化することを Hi-C 法と 4C-Seq 法等を用いて明らかにした[9]。また、エレノアをはじめとする核内非コード RNA には、ヌクレオソームを不安定化する機能があることを発見した[10]。

減数分裂時の相同染色体同士の対合に必要な要因として、染色体上に蓄積した長鎖非コード RNA とそれに結合する 9 種類の RNA 結合タンパク質を同定し[11]、RNA-タンパク質複合体形成によって起こる液相分離が、染色体対合を促進するポテンシャルとなることを提唱した[12]。

(3) クロマチンポテンシャルの実体を担う分子複合体や細胞核構造の再構成

DNA ビーズをマウス受精卵に高効率で導入する系を確立した。導入した DNA ビーズ上の DNA にヌクレオソームが形成され、その周りに、天然核と類似した核膜や核膜孔複合体を持つ人工核が形成されることを示した[13]。

線虫胚発生のクロマチン動態と物理量との関係を、変異体を使った実測と理論モデル化を用いて検討し、クロマチンが受ける引張力などの複数の要因が発生に重要であることを明らかにした[14]。また、生きた細胞内でのクロマチン運動を説明する理論を開発した[15]。

クライオ電子顕微鏡解析等により、ヌクレオソームがもつ転写バリエーション機能が転写伸長因子により軽減されることを明らかにした [16]。また、クロマチンリモデリング過程で形成されるオーバーラッピングヌクレオソームを再構成し、溶液散乱や分子軌道計算等により、ダイナミックで多様な構造を取ることを発見した[17]。

5. 今後の研究計画

実験と理論との融合をはじめとした領域内連携を促進しながら、クロマチンポテンシャルの実体解明に向けて研究を進める。イメージングとエピゲノム解析技術を組み合わせ、単一細胞や単一胚のクロマチン動態とエピゲノム構造を統合して解析し、クロマチンポテンシャルのダイナミックな変化を明らかにする。また、クロマチンポテンシャルを制御する因子を人為的に操作し、転写への影響を解析することで、どのような修飾・タンパク質・核内環境がクロマチンポテンシャルを制御するのか明らかにしていく。さらに、核内構造体の生成やクロマチン機能への制御に関して、再構成系を用いながら、分子機構を解明する。

6. 主な発表論文等（受賞等を含む）

査読有論文 150 報（内、領域内共同研究 36 報）

1. Sato Y, (他 9 名) *Kimura H. Histone H3K27 acetylation precedes active transcription during zebrafish zygotic genome activation as revealed by live-cell analysis. *Development* 146, dev179127 (2019)
2. Harada A, (他 6 名) Kurumizaka H, *Kimura H, *Ohkawa Y. Chromatin integration labeling technology enables low-input epigenomic profiling. *Nat Cell Biol* 21, 287-296 (2019)
3. Handa T, (他 5 名) Kurumizaka H, *Ohkawa Y, *Kimura H. Chromatin integration labeling for mapping DNA-binding proteins and modifications with low input. *Nat Protoc* (2020) in press
4. Takahashi S, (他 5 名) Obuse C, *Takebayashi SI, *Hiratani I. Genome-wide stability of the DNA replication program in single mammalian cells. *Nat Genet* 51, 529-540 (2019)
5. Miura H, (他 4 名) *Hiratani I. Single-cell DNA replication profiling identifies spatiotemporal dynamics of chromosome organization. *Nat Genet* 51, 1356-1368 (2019)
6. *Ochiai H, (他 6 名) Saitoh N, (他 3 名) Ohkawa Y, Kimura H, *Nikaido H. Genome-wide kinetic properties of transcriptional bursting in mouse embryonic stem cells. *Sci Adv* 6, eaaz6699 (2020)
7. Tsusaka T, Shimura C, *Shinkai Y. ATF7IP regulates SETDB1 nuclear localization and increases its ubiquitination. *EMBO Rep* 20, e48297 (2019)
8. Oya E, (他 7 名) Kurumizaka H, Tagami H, *Nakayama J. H3K14 ubiquitylation promotes H3K9 methylation for heterochromatin assembly. *EMBO Rep* 20, e48111 (2019)
9. Abdalla MOA, (他 3 名) Ohkawa Y, (他 2 名) Hiratani I, (他 2 名) *Saitoh N. The Eleanor ncRNAs activate the topological domain of the ESR1 locus to balance against apoptosis. *Nat Commun* 10, 3778 (2019)
10. Fujita R, (他 10 名) *Saitoh N, *Kurumizaka H. Nucleosome destabilization by nuclear non-coding RNAs. *Commun Biol* 3, 60 (2020)
11. *Ding DQ, (他 3 名) Nakayama J, Chikashige Y, Shirahige K, Haraguchi T, *Hiraoka Y. Chromosome-associated RNA-protein complexes promote pairing of homologous chromosomes during meiosis in *Schizosaccharomyces pombe*. *Nat Commun* 10, 5598 (2019)
12. *Hiraoka Y. Phase separation drives pairing of homologous chromosomes. *Curr Genet* doi: 10.1007/s00294-020-01077-9 (2020)
13. Suzuki Y, (他 5 名) Hiraoka Y, *Haraguchi T, *Yamagata K. Nuclear formation induced by DNA-conjugated beads in living fertilised mouse egg. *Sci Rep* 9, 8461 (2019)
14. Kondo T, *Kimura A. Choice between 1- and 2-furrow cytokinesis in *Caenorhabditis elegans* embryos with tripolar spindles. *Mol Biol Cell* 30, 2065-2075 (2019)
15. Put S, Sakaue T, *Vanderzande C. Active dynamics and spatially coherent motion in chromosomes subject to enzymatic force dipoles. *Phys Rev E* 99, 032421 (2019)
16. Ehara H, Kujirai T, Fujino Y, Shirouzu M, *Kurumizaka H, *Sekine SI. Structural insight into nucleosome transcription by RNA polymerase II with elongation factors. *Science* 363, 744-747 (2019)
17. Matsumoto A, *Sugiyama M, (他 6 名) *Kurumizaka H, *Kono H. Structural Studies of Overlapping Dinucleosomes in Solution. *Biophys J* 118, 1-11 (2019)

書籍 13 件

1. 木村暁：『細胞建築学入門』 工学社（2019）
2. 中山潤一：『動き始めたゲノム編集：食・医療・生殖の未来はどう変わる？』 ネッサ・キャリー著、中山潤一訳、丸善出版（2020）
3. 胡桃坂仁志：「あなたのタンパク質精製、大丈夫ですか？ 貴重なサンプルをロスしないための達人の技」、羊土社（2018）
4. 田口善弘：『生命はデジタルでできている 情報から見た新しい生命像』（ブルーバックス）、講談社（2020）

受賞 17 件、特許 10 件、和文総説等 49 件、学会発表 469 件（うち、招待講演 110 件）、アウトリーチ 62 件、報道等 174 件

ホームページ等

領域 HP <http://www.nibb.ac.jp/potential/>

領域 Twitter https://twitter.com/CP_Publicity