

機関番号：12601

領域設定期間：令和元年度～令和5年度

領域番号：7103

研究領域名（和文）多様かつ堅牢な細胞形質を支える非ゲノム情報複製機構

研究領域名（英文）Mechanisms underlying replication of non-genomic codes that mediate plasticity and robustness for cellular inheritance

領域代表者

中西 真 (NAKANISHI Makoto)

東京大学・医科学研究所・教授

研究者番号：40217774

交付決定（予定）額（領域設定期間全体）：（直接経費）1,168,000,000円

#### 研究の概要

非ゲノム情報の複製制御の理解に向けた研究は、“細胞機能を規定する情報の複製”という根源的に重要な学問領域の中核である。しかしながら、(1)非ゲノム情報が単純な核酸の塩基配列とは異なり、多様なレベルでの修飾情報や高次構造、さらにはそれらの相互干渉によりコードされる多面的、空間的、かつ、動的な情報であること、(2)それらが時間軸に沿っても展開される非ゲノム情報の「複製」は、さらに大きな複雑性を内包する過程であること、(3)ゲノム情報と異なり、非ゲノム情報は細胞種ごとに異なるものとなるため、複雑性はさらに大きくなることなどからその実態はほとんど解明されていない。本領域では、異分野とりわけ生化学を代表とする無細胞系解析と、マウスなどのモデル動物を用いた遺伝学的解析、細胞分化/自己複製研究などの細胞形質評価のモデルシステムを持つ研究者、さらには微量・高感度に非ゲノム情報コードやクロマチン高次構造を解析できる先端技術、データを統合し時空間的なモデルを構築する技術を持つ研究者を結集して融合的な学問体系を構築することにより、複雑性を持つ非ゲノム情報複製機構の概要を明らかにし、これらが制御する発生・腫瘍・再生・加齢などの“多細胞生物学”の解明に寄与する。

研究分野：エピジェネティクス

キーワード：DNAメチル化、ヒストン修飾、高次クロマチン構造、転写因子ネットワーク

#### 1. 研究開始当初の背景

真核細胞は細胞分裂に際して、基本的に同じ形質を維持しながら倍加する。細胞形質の遺伝は、ゲノム情報と非ゲノム情報によって規定される。非ゲノム情報もゲノム情報同様に、一定の堅牢性を賦与された遺伝情報として働く。しかしながら、ゲノム情報に比較すると不安定であり、発生シグナルや外的ストレスなどにより変化し、分化などの細胞応答の惹起にも寄与する。非ゲノム情報の持つ堅牢性と可塑性により、多細胞生物体は同じゲノム情報を持ちながら多様な形質を持つ細胞種を生み出す。このように非ゲノム情報の複製は、多細胞生物体を構成する分子基盤の最も重要なものである。それにも関わらず、非ゲノム情報の複製を制御する分子機構については、その多階層性と複雑性のためにほとんど分かっていない。これまで、本領域計画研究メンバーにより細胞増殖過程におけるDNAメチル化複製機構の概要が解明された。一方、ヌクレオソームの階層的制御機構の解明においても、世界的な貢献を続けてきている。さらに、形態形成シグナルや組織特異的エンハンサーがH3K27me3の複製機構を抑制すること、T細胞分化においてDNAメチル化やH3K27me3の複製機構が、直接分化系列を規定していること、造血幹細胞の研究からH3K27me3やH3K4me3の複製と、自己複製および分化との関連を明らかにしてきた。以上、本領域メンバーはこれまでに非ゲノム複製機構解明に向けて世界をリードする研究実績を重ねてきた。さらに、その予備的研究成果から、今まさに非ゲノム情報複製機構解明のための知識と経験、さらには*in vitro*、細胞、生体レベルでの解析系とそれらを統合する数理的技術が揃ったと判断し、本領域設立を着想した。

#### 2. 研究の目的

遺伝情報は、ゲノム情報だけでなく、DNAメチル化やヒストン修飾などの共有結合修飾

性コード、高次クロマチン構造、広義の転写因子ネットワーク、さらには非コード RNA を含めた“非ゲノム情報”により構成される。非ゲノム情報は、各階層における化学修飾などの多様性だけでなく、階層間の相互作用によってコードされる。しかしながら、このような非ゲノム情報がどのように複製され、生命現象を制御するのか、その理解に向けた取り組みは端緒に付いたばかりである。本研究領域は、非ゲノム情報が複製される機構の概要を明らかにし、それらが細胞分裂や減数分裂に伴って起こる細胞の分化や自己複製などの生命現象をどのように制御するかを解明することを目的とする。

### 3. 研究の方法

非ゲノム情報の複製機構と、それらにより制御される多細胞形質を俯瞰的、かつ体系的に理解するために、本研究領域に A01:非ゲノム情報の基本的複製機構と、A02:非ゲノム情報複製機構による細胞機能制御の各項目を設けて推進する(図1)。研究項目 A01 では、DNA メチル化、ヒストン修飾 (H3K27me3、H3K9me3)、非コード RNA および高次クロマチン構造、広義の転写因子ネットワークがどのように複製されるのかの基本分子機構や、それらの構造的基盤を解明する。さらに、一細胞、あるいは微量・高感度での解析を可能にする技術開発も目指す。ヒストン修飾の複製機構については、最終的には無細胞系での解析システムの確立を目標とする。研究項目 A02 では非ゲノム情報複製機構による細胞機能制御、とりわけ細胞分化、幹細胞自己複製・幹細胞性維持を中心に研究を推進する。多様な非ゲノム情報複製機構が、相互干渉的に制御されると考えられるので、各複製機構の解析から得られたビッグデータを統合して解析できる技術の開発を行う。

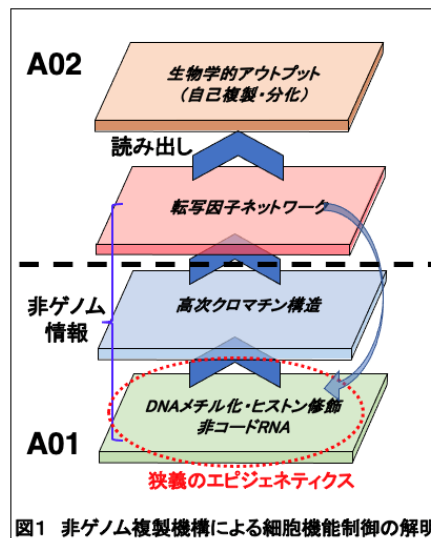


図1 非ゲノム複製機構による細胞機能制御の解明

### 4. 研究の進展状況及び成果

研究項目 A01 では、DNA メチル化、ヒストン修飾 (H3K27me3、H3K9me3)、および高次クロマチン構造複製の分子機構解析、構造的基盤の解明を中心に、これらを一細胞、あるいは微量・高感度での解析を可能にする技術開発を含めて推進した。研究項目 A02 では非ゲノム情報複製機構による細胞機能制御、とりわけ細胞分化、幹細胞自己複製・幹細胞性維持を中心に研究を推進した。具体的な進展は、A01 では DNA メチル化複製過程で生じる DNA-タンパク質架橋構造の修復機構として全く新規の分子メカニズムを明らかにしつつある。ヒストン修飾に関しては、H3K9me3 により規定されるヘテロクロマチン構造の複製機構の一端を解明した。高次クロマチン構造の複製については、体細胞分裂から減数分裂への切り替え時の高次クロマチン構造変化を制御する鍵分子である MEIOSIN を同定し、ゲノム編集スクリーニングを用いて MEIOSIN ターゲット遺伝子の機能解析に着手している。A02 では、造血幹細胞の細胞分裂により生み出される 2 つの娘細胞の細胞形質と高次クロマチン構造をペアとして一細胞解析することで、造血幹細胞の対称分裂と非対称分裂におけるクロマチン高次構造の継承の実態とその細胞形質変化への関わりを解明しつつある。

研究成果としては、現在までに原著欧文論文 157 報、そのうち IF10 以上の論文 54 報を公表している。COVID-19 パンデミック状態においても領域内共同研究によるものは 11 報であった。具体的な研究成果は、UHRF1 が PAF15 を dual モノユビキチン化し、これを分子マークとして DNMT1 が集積して活性化することを明らかにした。また、PAF15 が DNA 複製早期、ヒストン H3 が後期に主に作用することも示した (*Nature Commun* 2020)、岡崎フラグメント連結機構の解明 (*Nucleic Acid Res* 2021)、DPPA3 による初期発生における受動的 DNA 脱メチル化制御機構 (*Nature Commun* 2020)、個体内における DNA メチル化複製異常による老化細胞可視化と一細胞解析 (*Cell Metab* 2020) と老化細胞除去技術の開発 (*Science* 2021)、植物遺伝子内の抑制的 DNA メチル化確立に関わる新規機構の存在に成功した (*Nature Plants* 2020)。また、減数分裂時の高次クロマチン構造を制御する MEIOSIN の標的遺伝子の解析から、減数分裂の制御に重要な役割を果たす新規因子を複数同定するなど、減数分裂の素過程の解明に貢献した (*Dev Cell* 2020, *Cell Reports* 2020, *Nature Commun* 2021)。一方、技術的な開発として Auxin によるタンパク質分解誘導系を用いた新たな技術を確認した (*Nature Commun* 2020)。さらに、非ゲノム複製機構による細胞機能制御については、Aiolos 転写因子のミスセンス変異によるリンパ球分化障害機序の解明 (*Nature Immunol* 2021)、Runx によるエンハンサー制御と免疫細胞機能及び抗腫瘍活性効果の解明 (*Nature Commun* 2020)、骨髄ニッチを介した造血幹細胞非ゲノム情報制御と抗老化 (*J Exp Med* 2021) などを明らかにした。また造血系以外に神経系細胞発生過程における非ゲノム情報複製制御機構を解明した (*Nature Commun* 2020)。これらの成果により、非ゲノム情報複製機構、またそれらによる細胞分化や自己複製などの制御機構の理解が大きく進んだ。

### 5. 今後の研究計画

個々の領域研究のみならず、以下の課題を重点的に支援することで領域全体の研究推進を図る。

- ・非対称分裂、及び対称分裂過程における非ゲノム情報複製機構の解明
- ・DNA-タンパク質架橋構造を修復してゲノム情報を安定維持する分子機構の解明
- ・体細胞分裂から減数分裂への移行における高次クロマチン構造制御
- ・抑制性クロマチン構造複製機構の解明

#### 6. 主な発表論文等（受賞等を含む）

(1) 発表論文（原著欧文論文 157 報、IF10 以上 54 報、領域内共同研究 11 報）

- ・ Johmura Y, (他 21 名), \*Nakanishi M. Senolysis by glutaminolysis inhibition ameliorates various age-associated disorders. *Science* 371, 265-270 (2021)
- ・ Horisawa-Takada Y, (他 18 名), \*Ishiguro K. Meiosis-specific ZFP541 repressor complex promotes meiotic prophase exit during spermatogenesis. *Nature Commun* 12, 3184 (2021) (領域内共同研究)
- ・ Oizumi Y, (他 3 名), \*Kanoh J. Complete sequences of *Schizosaccharomyces pombe* telomeres reveal multiple patterns of genome variation. *Nature Commun* 12, 611 (2021)
- ・ Yamashita M, (他 17 名), \*Taniuchi I., \*Morio T. *Nature Immunol* (2021)
- ・ Kuribayashi W, (他 10 名), \*Iwama A. Limited rejuvenation of aged hematopoietic stem cells in young bone marrow niche. *J Exp Med* 218, e20192283 (2021)
- ・ Fujino T, (他 20 名), \*Kitamura T. Mutant ASXL1 induces age-related expansion of phenotypic hematopoietic stem cell through activation of Akt/mTOR pathway. *Nature Commun* 12, 1826 (2021)
- ・ Kumamoto S, (他 5 名), \*Nakanishi M. HPF1-dependent PARP activation promotes LIG3-XRCC1-mediated backup pathway of Okazaki fragment ligation. *Nucleic Acids Res* 49, 5003-5016 (2021)
- ・ Omori S, (他 31 名), \*Nakanishi M. Generation of a p16 Reporter Mouse and Its Use to Characterize and Target p16<sup>high</sup> Cells In Vivo. *Cell Metab* 32, 814-828 (2020) (領域内共同研究)
- ・ \*Nishiyama A, (他 17 名), \*Nakanishi M. Two distinct modes of DNMT1 recruitment ensure stable maintenance DNA methylation. *Nature Commun* 11, 1222 (2020) (領域内共同研究)
- ・ \*To TK, (他 7 名), \*Kakutani T. RNA interference-independent reprogramming of DNA methylation in Arabidopsis. *Nature Plants* 6, 1455-1467. (2020)
- ・ Takemoto K, (他 8 名), \*Ishiguro K. Meiosis-specific C19orf57/4930432K21Rik/BRME1 modulates localization of RAD51 and DMC1 to DSBs in mouse meiotic recombination. *Cell Reports* 31, 107686 (2020)
- ・ \*Ishiguro K, (他 11 名), Niwa H. MEIOSIN directs the switch from mitosis to meiosis in mammalian germ cells. *Dev Cell* 52, 429-445 (2020) (領域内共同研究)
- ・ Yesbolatova A, (他 12 名), \*Kanemaki M. The auxin-inducible degron 2 technology provides sharp degradation control in yeast, mammalian cells, and mice. *Nature Commun* 11, 5701 (2020)
- ・ Eto H, \*Kishi Y, (他 3 名), Koseki H, \*Gotoh Y. The Polycomb group protein Ring1 regulates dorsoventral patterning of the mouse telencephalon. *Nature Commun* 11, 5709. (2020)
- ・ Seo W, (他 5 名), \*Taniuchi I. Runx-mediated regulation of CCL5 via antagonizing two enhancers influences immune cell function and anti-tumor immunity. *Nature Commun* 11, 1562 (2020)
- ・ Yagi M, (他 9 名), \*Yamada Y. Identification of distinct loci for de novo DNA methylation by DNMT3A and DNMT3B during mammalian development. *Nature Commun* 11, 3199 (2020)
- ・ Hayashi Y, (他 15 名), \*Kitamura T. Antitumor immunity augments the therapeutic effects of p53 activation on acute myeloid leukemia. *Nature Commun* 10, 4869 (2019)

(2) 欧文総説

- ・ Nishiyama A, \*Nakanishi M. Navigating the DNA methylation landscape of cancer. *Trends in Genetics* (2021)
- ・ Nomura A, \*Taniuchi I. The role of CD8 downregulation during thymocyte differentiation. *Trend. Immunol* 41:972-981 (2020)

(3) 領域関連の総説集

月刊「細胞」特集号「非ゲノム情報の複製機構」2020年8月号 ニューサイエンス社

(4) 受賞 15 件（岸：令和3年度 科学技術分野文部科学大臣表彰若手科学者賞、北村：第8回日本血液学会賞など、）

ホームページ等

領域 HP <https://non-genome.com>

領域 Slack <https://w1589449115-rlo171249.slack.com>