

研究プロジェクト
クロマチン・デコーディング
Research Project: Chromatin Decoding

1. 研究計画

実施期間： 2013～2015 年度（第 3 年次）

Term of the Project: 2013-2015 fiscal years (3rd year)

研究代表者： 石川 冬木 京都大学大学院生命科学研究科教授

Project leader: Dr. Fuyuki ISHIKAWA, Professor, Graduate School of Biostudies, Kyoto University

研究目的要旨：

ヒトは約 2 万個の遺伝子とそのゲノム DNA に有するが、個々の細胞は、それが行う細胞機能を実行するために必要な遺伝子のみを発現する。すなわち、細胞の分化とは、全ての遺伝子の中から果たすべき機能に必要な遺伝子セットを特定することであり、その仕組みの破綻は、細胞のがん化、老化、機能低下をもたらす。細胞が発現すべき遺伝子セットを決定する過程には、ゲノム DNA と多数の蛋白質が集合してできた複合体クロマチンが中心的な役割を果たす。しかし、これまでのクロマチン研究は、特定のモデル生物が特定の細胞種となる個別の研究対象を用いて各論的に行われており、今後、それらを統合的に理解することが必要である。本研究では、原子・分子の微小レベルから、ナノ・マイクロメーターの巨視的レベルにいたるまでの多層階層をなすクロマチン制御機構をそれぞれの専門家の発表をもとに討議し、クロマチンがもつ遺伝情報を解読（デコード）する仕組みを総合的に理解することを目指す。この作業によって、クロマチンに刻まれた生物進化過程を理解する視座が与えられる。

研究目的：

①背景：

あらゆる生物を形作り、機能させる設計図は、それぞれの生物に固有な遺伝情報に記録されている。遺伝情報はゲノム DNA の塩基配列として存在し、特定の蛋白質や RNA をコードする個々の DNA 領域は遺伝子と呼ばれる。ヒトには、約 2 万個の遺伝子が存在するが、その中には、あらゆる細胞がその機能発現を必要とする比較的少数の遺伝子と、特定の種類の細胞でのみ機能する多くの遺伝子が存在する。従って、細胞が心臓や血液細胞などの異なる細胞種に分化し機能する過程は、それぞれの細胞種が異なる遺伝子セットだけを発現することで達成される。実際、ある特定の種類の細胞が発現する遺伝子は、全遺伝子のうちの約 10%程度に過ぎないと言われ、多くの遺伝子が発現抑制された状態に置かれている。このように、細胞の分化とは、発現すべき遺伝子セットを特定することであり、近年開発された iPS 細胞などの未分化細胞誘導技術は、すでに確立された発現遺伝子セットをリセットし、あらためて様々な遺伝子セットを発現可能にせしめることを指す。

このように、DNA にコードされた遺伝子は、その発現の有無を制御することが重要であるが、それは多層にわたる分子機構に基づいて行われる。生体内において、ゲノム DNA は多数の蛋白質と結合して存在し、それはクロマチンと呼ばれる。クロマチンを構成する蛋白質の種類、数、化学修飾の変化によって遺伝子発現は大きな影響を受ける。

DNA はヒストン蛋白質と結合してヌクレオソームと呼ばれる球状構造物を形成し、これがクロマチ

ンの基本構造である。ヒストンは、数多くの酵素によってメチル化、アセチル化、リン酸化、ユビキチン化、ADP リボシル化などの化学修飾を受け、その結果、DNA や他の蛋白質との結合状態を変化させることで、クロマチンに含まれる遺伝子の発現状態を制御する。このようなクロマチンの変化による遺伝子の発現制御は、DNA 配列の変化を伴わずにおこるので、エピジェネティクスと総称される。ヒストン修飾は、単一の修飾の有無のみならず、ヒストン上の複数のアミノ酸に特有の化学修飾が同時におこる化学修飾の組み合わせがあつてはじめて遺伝子機能に影響を及ぼす場合があることが知られており、これをヒストン・コード仮説と呼ぶ。

一方、ヒトゲノム DNA は 3×10^9 塩基からなる非常に長い DNA であり、それを折りたたみのない状態で直線状に並べた場合、約 2 m の長さになると言われている。そのような長い DNA は、細胞内にあつて、直径が数十 μm しかない核と呼ばれるほぼ球状構造体に収納されている。従つて、ゲノム DNA は必然的に高度に折りたたまれて、核内に配置されている。そのような核内配置が遺伝子発現に影響を及ぼすことも知られている。

このように、クロマチンは原子、分子レベルで解析されるべき微視的分子機構と、ナノメートル~マイクロメートル・スケールで解析すべき巨視的分子機構によって、遺伝子発現が制御されている。これらの異なる階層の制御機構を統一して理解し、その結果、クロマチンにコードされた遺伝情報がいかに解読（デコード）されて、生体機能や種々の疾病などの高次生命現象をもたらすのかを明らかにすることが重要であるが、そのような統一して視点はいまだ十分に確立していない。

②必要性・期待される結果と意義・新たな学術の「芽」:

クロマチンは原子、分子レベルから細胞、個体レベルにいたるまでの多層構造をなしている。そのため、従来の研究は、特定のモデル生物を用いた特定のレベルに焦点を当てて研究が行われてきた。しかし、クロマチン・デコーディングをクロマチンがもつ情報を解読して、生物個体が地球環境で生存することに適した変化を行うことであると考えると、微視的なレベルから巨視的なレベルにいたるまでクロマチン制御機構を統合的に理解し、最終的に、その成果をヒトの生理・病理機構の理解に結びつける必要がある。

本研究は、このようなクロマチン・デコーディングの統合的な理解を目的とするものであり、従来の研究活動では十分に果たし得なかった研究課題を解決しようとするものである。

期待される結果と意義として、第一に、クロマチンに関する個々の化学変化をもたらす分子を同定することで、それらの機能を阻害もしくは活性化する薬剤を開発する糸口を与えることがあげられる。そのような薬剤は、がん、老化、精神神経疾患の治療薬となることが期待される。このような短期的・応用的な成果に加えて、たとえば、「学習する」とはどういうことか、などのヒトの高次生命現象に関する新たな理解の生物学的基盤を与えるものと期待される。

あらゆる生物がゲノム DNA やクロマチンにコードする情報は、長い進化の歴史で築かれたものであり、刻々変化する地球環境において、その生物が子孫個体をできるだけ残すことを目的として形作られたと考えられる。このように、クロマチンには生物の歴史を刻まれており、そのエッチングを理解する新たな学術領域の創成が期待できる。

③方針:

前節で述べたように、クロマチンには、DNA の塩基配列に加えて、結合する蛋白質の種類、位置、それらの相互作用など、多層にわたる情報がコードされている。さらに、これらのクロマチン情報は、DNA 配列と同様に、細胞分裂や個体の世代交代などの節目を越えて、それまでに存在していたクロマチン情報を子孫細胞、子孫個体に受け渡すことができることも知られている。このことは、クロマチン情報を安定に維持する仕組みが存在することを示し、その維持機構の破綻が細胞のがん化や老化などの疾病をもたらすことを意味している。

そこで、本研究では、クロマチンに情報がコードされ、それが維持される仕組みを明らかにし、その異常がどのような病態につながりうるのかを議論することを目的としている。このために、以下の研究

計画・方法の欄に示す5つの柱からなる研究を計画する。

Objectives:

While the building blocks of an organism is encoded by its genomic DNA, chromatin instructs an organism how to build functional cells from the building block. Chromatin is a complex made up by DNA and associated proteins. To understand how organisms adaptively live, we need to understand how chromatin molecularly operates. Through numerous studies in the past decades, it is now clear that chromatin is regulated at multi-layers, from the atom and molecular levels to the nano-to-micrometer level.

In this study, we first will discuss mechanisms how chromatin differentially activates or represses different sets of genes, and stably maintains the complete set of genome DNA. We then will discuss how chromatin control biological functions at a higher level, such as aging, cancer, learning and mind. We finally investigate how we can integrate these diverse yet exciting behaviors of chromatin into a simple framework to understand living organisms.

キーワード: 遺伝子、クロマチン、高次生命機能

Key Word: gene, chromatin, complex biological functions

研究計画・方法:

2013年度:

①年度毎の研究目標や進め方

3年間の研究期間において、以下の5つの研究の柱を設定する。柱1)～3)は、柱4)、5)を行うための基礎的知見を与えるので、主に研究期間の前半で実施し、そこで得られた成果をもとに、柱4)、5)を研究期間の後半で実施する。

1) 微視的クロマチン・デコーディング

クロマチンを構成するヒストンの化学修飾状態、それらを認識する蛋白質の種類は膨大な数にのぼる。そのため、個別に詳しく検討されたクロマチンによる遺伝子制御機構は報告されているものの、生物種を超えて、細胞分裂や細胞分化、環境変化など、生体が直面する特徴的な条件下で同じようなクロマチン変化が生じ、それを細胞がデコードし、適応的な反応をもたらすのか否かは不明である。本研究の柱では、このような細胞環境と分子レベルの微視的クロマチン構造との間の相関関係を統一的に明らかにする。

2) 巨視的クロマチン・デコーディング

クロマチンは、いまだ十分に明らかにされていない高次折れたたみ構造を形成し、染色体として核内に存在する。染色体の核内存在様式は、これまで十分に解析されていなかったが、近年の可視化技術、網羅的 DNA 配列解読技術、クロマチン間相互作用検出技術の進歩により、少しずつ、その実態が明らかになりつつある。本研究の柱では、このようにして得られた核内染色体存在様式の特徴と、増殖、分化、ストレス反応などの細胞の状態との相関、因果関係を明らかにする。これは、巨視的なクロマチン・デコーディングと考えることができ、前段で既述した微視的デコーディングと相補的な関係にある。

3) クロマチンの次世代への安定な継承機構

あらゆる生物は、それがもつ遺伝子セットを過不足なく子孫細胞や子孫個体に受け渡すことで、はじめて種の維持が可能である。ゲノム DNA が子孫細胞に受け継がれるためには、細胞分裂を駆動する細胞周期が正確に行われる必要があり、そのためには、染色体がもつテロメアとセントロメアの2種類の特殊なクロマチン構造が正確に機能する必要がある。これらのクロマチン構造がどのように維持され機

能するのかを明らかにする。

4) クロマチン・ダイナミクス

一端、クロマチンがある状態をとると、その状態を静的に維持する場合とともに、クロマチン状態を引き続き積極的に変化させる場合があることが知られている。たとえば、未分化な細胞が分化した細胞に変化する過程では、必要とされる遺伝子が刻々と変化するために、継続的なクロマチン・ダイナミクスがしばしば観察される。

このようなクロマチン状態の変化は、リモデリング因子と呼ばれるヌクレオソームの構造や位置の変化を促す因子によって行われることが知られていたが、その詳細は不明であった。近年、リモデリング因子の立体構造解析の結果より、クロマチンの動的変化過程が明らかになりつつあるので、クロマチン・ダイナミクスと細胞機能との相関、因果関係を明らかにする。

5) 高次生命現象とクロマチン・デコーディングの関係

細胞が、がん化や老化に伴う機能低下を示す過程では、正しいクロマチン状態を維持することができなくなり、その結果生じるクロマチン機能の異常が病的状態をもたらすことが知られている。さらに、ヒストンに化学修飾を行う酵素の阻害剤がヒト精神性疾患の薬剤として用いられること、マウスなどのモデル生物を、その精神活動を刺激するような環境で飼育すると、そうでない環境で飼育された場合に比べて、神経細胞のクロマチン状態が変化し神経活動が活性化されることが知られている。これらの事実は、クロマチン・デコーディングの変化が、がん、老化、精神活動など、ヒトの高次機能と深い関わりがあることを示唆しており、そのような因果関係をさらに深く明らかにするとともに、得られた知見をもとにして、ある種のヒト疾患の治療法につながる可能性を探る。

2014年度：

①研究目標や段階

2014年度においては、高等研カンファレンスの他に、2回の研究会を予定する。

2013年度第1回研究会と2014年5月開催の高等研カンファレンス Chromatin Decoding によって、さまざまなクロマチン研究の最先端の現状を俯瞰することができると期待される。そこで、高等研カンファレンスの後に開催される2014年度第1、第2回研究会では、以下のような視点からクロマチン研究の現状を把握することに努める。

近年飛躍的に進歩したゲノム DNA 解読技術、特に、いわゆる次世代シーケンサーの登場は、生命科学に革新的な方法論を提供しており、クロマチン研究はまさにその中心にあるといえる。次世代シーケンサーを利用したクロマチン免疫沈降・シーケンシング法、染色体高次構造解析法 (3C 法、Chromosome conformation capture 法) などの新しい技術によって、クロマチンの微視的・巨視的構造機能がダイナミックに変換する姿を解析することが可能となっている。第2回研究会では、このような最先端技術によるクロマチン研究の変貌を、外部専門家による講演を含めて議論する。

一方、本来微視的に定義されるクロマチンが、細胞の分化、老化、がん化、初期化などの細胞・組織の形質転換にどのように関わるのか、あるいは、個体の行動、環境との相互作用などの個体を越えた形質発現にどのように結びつくのか、が今後クロマチン研究において開拓すべき新領域であると思われる。本研究は、このようなクロマチン機能を「延長された表現型 (extended phenotypes)」と呼び、特に注目をしていく予定であり、第3回研究会においては、外部専門家による講演を含めて「延長された表現型」について議論を行う。

②研究の進め方

2014年度は、研究の初期段階であるので、さまざまなトピックスに焦点を絞り、外部講師を積極的に招へいして、各研究者の専門領域以外の研究について積極的に討論することで、研究者の視野を

広げ、次年度以降の総合的な研究に資するように研究を進める。

参加研究者リスト：計 25 名

氏名	所属	職名	専門分野
◎ 石川 冬木	京都大学大学院生命科学研究所	教授	分子生物学
有吉 真理子	京都大学工学研究科	特任研究員	構造生物学
五十嵐 和彦	東北大学大学院医学系研究科	教授	分子生物学
石井 俊輔	理化学研究所・石井分子遺伝学研究室	上席研究員	分子生物学
岩間 厚志	千葉大学大学院医学研究院	教授	幹細胞生物学 分子生物学
上田 泰己	東京大学大学院医学系研究科	教授	システム生物学
太田 邦史	東京大学大学院総合文化研究科	教授	分子生物学
影山 龍一郎	京都大学ウイルス研究所 物質-細胞統合システム拠点	教授	分子生物学
木村 宏	東京工業大学生命理工学研究科	教授	分子細胞生物学
胡桃坂 仁志	早稲田大学理工学術院先進理工学部研究科	教授	構造生物学・生化学
定家 真人	京都大学大学院生命科学研究所	助教	分子細胞生物学
塩見 美喜子	東京大学大学院理学系研究科	教授	RNA 生物学
白髭 克彦	東京大学分子細胞生物学研究所	教授	ゲノム機能情報
眞貝 洋一	理化学研究所主任研究員	主任研究員	分子生物学
立花 誠	徳島大学疾患酵素学研究センター	教授	分子生物学
樽本 雄介	京都大学大学院生命科学研究所	助教	分子細胞生物学
中西 真	名古屋市立大学大学院医学研究科	教授	分子生物学
中山 潤一	名古屋市立大学大学院システム自然科学研究科	教授	分子生物学
西田 栄介	京都大学大学院生命科学研究所	教授	生化学・細胞生物学
平岡 泰	大阪大学大学院生命機能研究科	教授	細胞生物学
深川 竜郎	国立遺伝学研究所分子遺伝研究部門	教授	分子細胞生物学
舛本 寛	(公財) かずさDNA研究所細胞工学研究室	室長	分子細胞生物学
村上 洋太	北海道大学大学院理学研究院科学部門	教授	エピジェネティクス
本橋 ほづみ	東北大学加齢医学研究所遺伝子発現制御分野	教授	生化学・分子生物学
森川 耿右	京都大学物質-細胞統合システム拠点	客員教授	構造生物化学

2. 研究活動実績

2013 年度：

これまでのクロマチン研究は、特定のモデル生物が特定の細胞種となる個別の研究対象を用いて各論的に行われてきた。本研究では、原子・分子の微小レベルから、ナノ・マイクロメートルの巨視的レベル、さらには個体行動、環境と個体の相互作用にいたるまでの多層階層をなすクロマチン制御機構をそれぞれの専門家の発表をもとに討議し、クロマチンがもつ遺伝情報を解読（デコード）する仕組みを総合的に理解することを目指している。

H25年度は、2014年3月28～30日に2014年度第1回研究会を高等研において実施した。研究プロジェクトメンバー21名中、19名が参加し、それに加えて、田中智之（Dundee大）、高木雄一郎（Indiana大）、木村宏（阪大院生命機能）、高橋秀尚（北大院医）、舛本寛（かずさDNA研）、横山明彦（京大院医）、定家真人（京大院生命科学）、樽本雄介（京大院生命科学）の8名のゲスト発表者・討論者を含む総計27名の参加者によって17件の発表に対して熱心な討論が行われた。本研究プロジェクト推進の観点から重要と思われる代表的な発表を以下に紹介する。

クロマチンの基本構造は、ゲノムDNAとヒストン蛋白質からなるヌクレオソームであり、ゲノム機能は、DNA配列によって規定されるだけではなく、ヒストン蛋白質のメチル化、アセチル化、リン酸化、ユビキチン化などのクロマチン蛋白質の化学修飾によって制御される。ヒストンは、H1、H2A、H2B、H3、H4の5種類に大別され、そのうち、H2A、H2B、H3、H4がそれぞれ2個ずつ、合計8個のヒストンによってヒストンオクタマーと呼ばれるヌクレオソームの基本構造が形成される。これらの各ヒストンの特定の amino 酸は先に述べた蛋白質修飾を受け、ヌクレオソームの化学的性質を変化させることで、それに結合するゲノムDNA機能を調節する。たとえば、ヒストンH3の9番目のリジン残基（H3K9）は、アセチル化もしくはメチル化を受け、アセチル化H3K9は結合DNA遺伝子の活性化、メチル化H3K9は抑制をもたらす（図1）。

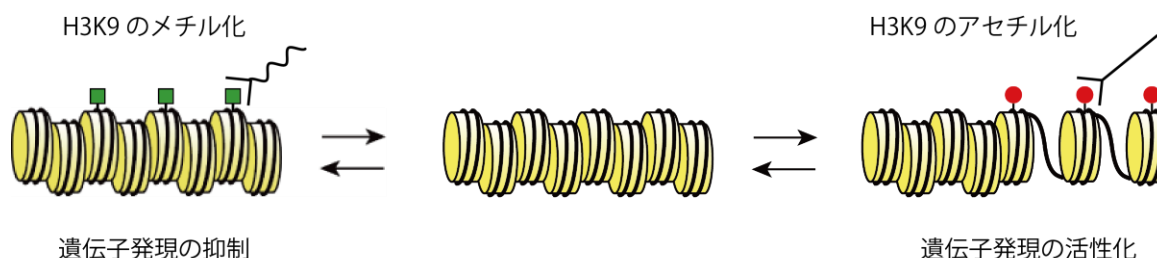


図1 ヒストンの化学修飾と遺伝子活性

8個のヒストン蛋白質が複合体（ヒストンオクタマー、図では黄色の円盤で模式的に示されている）を作り、DNAがその周囲に巻き付いている（円盤の周囲の黒線で示されている）。特定のヒストン蛋白質化学修飾（緑四角あるいは赤丸で示されている）は特異抗体で検出できる。

これらのヒストン修飾の有無は、従来、アセチル化H3K9などの特定のヒストン修飾を特異的に認識する抗体を用いて解析されてきた（図1）。しかし、抗体を用いた実験は、細胞や組織を生化学的に抽出あるいは固定した後に行われるため、生きた細胞・組織内で、特定のヒストン修飾がどのような時空間的变化を示すのかを経時的に追跡することはできなかった。

木村（阪大）は、アセチル化H3K9を特異的に認識するモノクローナル抗体を産生するハイブリドーマから、抗原であるアセチル化H3K9を認識する抗体認識部位に相当する遺伝子をクローニングし、それをGFP蛋白質などの蛍光蛋白質と融合させて細胞内で発現する（modification-specific intracellular antibody, mintbody）ことにより、生細胞、正組織における各細胞のアセチル化H3K9量、分布を時空

間にわたって追跡することに成功した (*Scientific Reports*, 3:2436, 2013)。この成果は、組織・個体の発生、老化、病態における特定のヒストン化学修飾の変化を追跡することを可能にし、それらの修飾ヒストンが生理的・病理的生命現象に果たす役割を明らかにする突破口を開いたといえ重要である。

iPS 細胞は、Oct-3/4、Sox2、Klf4、Myc からなる山中 4 因子を分化細胞に強制発現させることで得られる多能性分化能をもつ未分化細胞をさす。分化細胞を未分化状態に変換する (リプログラミング) 最初の成功例は、1958 年に英国の Gurdon による、カエル分化体細胞核をカエル卵に移入する核移植によって得られた。その後、核移植によるリプログラミングは、羊 (ドリー) その他の哺乳類生物でも成功することが報告されている。石井 (理研) は、精子特異的ヒストン H2A、H2B として報告された TH2A (testis H2A)、TH2B が精子のみならず卵子にも発現されており、生殖細胞特異的ヒストンといえることを示した。そこで、核移植リプログラミングが体細胞ヌクレオソームを卵という生殖細胞環境におくことを意味することから、TH2A、TH2B 遺伝子が体細胞核のリプログラミングを促進するのではないかと考えた。そこで、TH2A、TH2B 遺伝子を山中 4 因子遺伝子とともに体細胞で強発現させると、iPS 作成効率が有意に向上することを示した (*Cell Stem Cell*, 14, 217, 2014)。

動物の精子が形成される過程では、ゲノム量を体細胞の半分にするために減数分裂が行われる。減数分裂は特徴的な段階を経て行われるが、そのうち、ザイゴテン期からパキテン期に移行する間に、精子ゲノムから遺伝子発現抑制性のメチル化 H3K9 が消失することが知られていた。メチル化 H3K9 は脱メチル化酵素 Jmjd1a によって脱メチル化されることが知られていたため、立花 (徳島大) は、Jmjd1a ノックアウトマウスを作成した。その結果、意外なことに、性染色体が XY のオス型ノックアウト個体には、外形上、オスの特徴を示すもののほか、メスに見えるもの、オスとメスの両方の特徴を示す (半陰陽) ものが存在し、遺伝的なオス個体が性分化異常を示すことを発見した。オス個体のオスとしての性分化は、Y 染色体上にある Sry 遺伝子が誘導することが知られている。立花は、正常オス個体では、Jmjd1a が Sry 遺伝子を抑制するメチル化 H3K9 を十分に消去してその発現を誘導してオス化させるが、オス Jmjd1a ノックアウトマウス個体では、それができないために十分な Sry 遺伝子発現がおこらず、メス化、半陰陽化などの性分化異常がおこることを証明した (*Science*, 341, 1106, 2013)。

以上の石井および立花による二研究は、特定の細胞種あるいは組織において特異的に発現されているヒストンやヒストン修飾酵素が、生殖細胞の未分化能の維持や性分化など、重要な生物機能をもたらすことを示す研究成果として注目される。

遺伝子が転写されて mRNA が作られるときには、転写反応を活性化する転写因子がエンハンサーに結合するとともに、RNA 合成酵素が転写開始部位であるプロモーターにリクルートされることが必要である。エンハンサーとプロモーターは共に遺伝子上流にある DNA 配列をさすが、それらは同一部位にはなく互いに離れているため、RNA 合成酵素による転写反応の開始が効率よくおこるためには、エンハンサーとプロモーターの間の DNA 配列がループアウトして両者が接近する必要がある。メディエーター複合体は、エンハンサーとプロモーターの間を橋渡しして、両者が空間的に接近することを促進する蛋白質複合体である。出芽酵母メディエーター複合体は 25 種類の蛋白質からなり、総分子量が 1 MDa を越える巨大複合体である。高木 (Indiana 大) は、メディエーター複合体がいくつかのモジュールから構成されることを利用して、モジュールのひとつである 7 蛋白質からなる頭部 (223 kDa) の立体構造をリコンビナント蛋白質の結晶回折像から得ることに成功した (*Nature*, 475, 240, 2011)。その結果、メディエーター頭部は、RNA 合成酵素 II と TFIIF と呼ばれる重要な転写因子と結合するドメインをもつ動的に構造を変化しうることを明らかにした。TFIIF は、RNA 合成酵素 II をリン酸化してその転写活性を促進することが知られている、そこで、メディエーター頭部は RNA 合成酵素 II と TFIIF を近接させるハブ蛋白質として機能し、そのリン酸化を容易にさせていると提唱された。本研究においては、7つのリコンビナント蛋白質を効率よく調製してメディエーター複合体のサブドメインを再構成し、その結晶の X 線回折像から立体構造を得ている。一般に、クロマチンを修飾・制御する蛋白質は、複数の構成成分が巨大な複合体をつくって機能することが多く、本研究は、そのような複合体の立体構

造を明らかにし、複合体の生体機能を原子レベルで理解するモデル研究であるといえる。今後、同様の解析が他のクロマチン制御複合体に応用され、そのクロマチンを介した生体調節の理解が深まることが期待される。

以上紹介した4件の発表は、クロマチンによるゲノム制御を原子レベルで理解すると同時に、その効果が遺伝子発現のオンオフにとどまらず、動物の性決定、ゲノムプログラミングによる多分化能の確立などの個体レベル高次生命現象を決定することを示している。これらの発表以外にも、原子レベルから個体レベルにいたる、生物の種としての維持、遺伝子発現振動を介した体制のパターニング、発がんや老化などの幅広いさまざまな生命現象におけるクロマチンの役割について多くの優れた発表と討論が行われた。そのような討議を通じて、第2回研究会はクロマチン研究の新しい解析技術とそれを応用した研究のフロンティアについて議論することとした。

次に、本研究会と関連して、2014年5月12～15日に高等研カンファレンス「Chromatin Decoding」を開催し、海外招へい講演者12名、本研究参加研究者を含む国内招待講演者15名が口頭発表を行い、それに加えて公募による討論者約20名、公募によるポスター発表者約30名が参加する予定である。

このように、今年度においては、本研究の目的、今後討論するためのプラットフォームおよび今後の研究方針を本研究会メンバーが共有することができた。

2013年度：

研究会開催実績：

第1回 2014年3月28日～3月30日（於：高等研）

話題提供者：6名

木村 宏	大阪大学生命機能研究科准教授
高木 雄一郎	Department of Biochemistry and Molecular Biology Indiana University of Medicine
高橋 秀尚	北海道大学大学院医学研究科助教
田中 智之	University of Dundee College of Life Sciences
舂本 寛	かずさDNA研究所先端研究部細胞工学研究室室長
横山 明彦	京都大学大学院医学研究科特定准教授

その他参加者：2名

定家 真人	京都大学大学院生命科学研究科助教
樽本 雄介	京都大学大学院生命科学研究科助教

2014年度：

1. 研究プロジェクト状況

本年度は、2014年5月12日～15日に国際高等研究所にて高等研カンファレンス「クロマチン・デコーディング」、5月16日には東京大学伊東謝恩ホールにて高等研レクチャー「クロマチン・デコーディング」を開催した。

高等研カンファレンスには、海外より Thomas R Cech 博士（コロラド大学）、John Abelson 博士

(UCSF, USA)、Timothy J Richmond 博士 (ETH Zurich) をはじめとする 9 名の研究者、国内より 16 名の研究者を招へいし、「クロマチン・デコーディング」に関する活発な発表・討論を行った。会議は、“Telomere and centromere chromatin”、“Structural aspects of chromatin decoding”、“Transcriptional decoding of chromatin”、“Chromatin-RNA interface”、“Molecular decoding”、“Extended phenotypes of chromatin” のセッションに従って行われ、それぞれ参加者全員が参加し議論に加わった。本年度は、研究プロジェクトの 2 年目にあたり、1 年目の研究会の成果を発展させて、クロマチンによる生命現象発露を原子・分子レベルにおいて理解するとともに、システム全体として理解する努力を行う時期にあたる。遺伝子転写反応や蛋白質翻訳反応などのセントラルドグマに相当する最も重要な生命素反応の様式が原子レベルで解析された成果が発表される一方、ゲノム機能の網羅的解析、核内染色体空間の 3 次元解析、マウスを用いた中枢神経機能とクロマチンに関する発表があるなど、当初の目的通りの成果を上げることができた。

高等研レクチャー「クロマチン・デコーディング」では、Thomas R Cech 博士、John Abelson 博士、Timothy J Richmond 博士による若手研究者、大学院・学部学生向きの講演が行われ、230 名にもものぼる大勢の聴衆を集めた。講演後の活発な質疑など、若い研究者の卵の本分野に対する知的好奇心を刺激するよい機会となった。

本年度は、以上述べた高等研カンファランス、レクチャーに加えて 2015 年 3 月 19 日～21 日に国際高等研究所において研究会を実施した。研究プロジェクトメンバーに加えて、大川恭行 (九大)、小布施力史 (北大)、清宮啓之 (がん研究会がん化学療法センター)、広田亨 (がん研究所) の 4 名のゲスト発表者を含む総計 23 名が参加者し、18 件の発表に対して熱心な討論が行われた。以下に、本研究プロジェクトにおいて特に重要と思われる代表的な発表を紹介する。

クロマチンを構成するヌクレオソームは一様に分布しているわけではなく、高度に凝集した状態 (ヘテロクロマチン) と相対的に分散した状態 (ユークロマチン) が核内に存在する。ヘテロクロマチンとユークロマチンの二つの状態間の変換は、遺伝子の活性化や抑制など発現制御と密接に関係しており、近年エピジェネティクスの中心的研究課題となっている。これら二つの状態間の遷移には様々な蛋白質と RNA が関係するが、ヒストン蛋白質の翻訳後修飾の役割は特に重要である。例えば、Heterochromatin protein 1 (HP1) はメチル化されたヒストンに高い親和性を持って結合することにより、ヘテロクロマチン形成に関わるタンパク質である。本研究会で小布施 (北大) は、プロテオミクス解析とゲノミクス解析を巧みに組み合わせて、HP1 の新たな機能を紹介した。非相同組換え (NHEJ) と相同組換え (HR) は DNA 損傷修復における二つの主要な経路であり、どちらが優先されるかは細胞が増殖する過程で切り替わることが知られている。例えば、NHEJ が起こる際には、DNA 切断部位に 53BP1 タンパク質を介して RIF1 タンパク質が集積し、HR が阻害される。小布施が同定した新規の HP1 結合タンパク質は、この 53BP1 と細胞周期依存的に相互作用することで RIF1 の集積を阻害し、代わりに BRCA1 タンパク質の集積を促進することにより、HR を促進することが明らかとなった。つまり、53BP1 を軸とした RIF1 と HP1 のタンパク質結合の切り替えが、NHEJ と HR のどちらの経路を選択するかの分子機構の一つであるというモデルを提唱した。すなわち、HP とそれに結合する蛋白質の機能に依存して染色体の遺伝子組み替え機構が変換される事実が明らかとなった。

多くのがん細胞ではテロメラーゼが発現しているにも関わらず、周囲の正常細胞に比べてテロメアが短く維持されている。清宮 (がん研) は、がん細胞にテロメラーゼを強制発現させてテロメアを伸ばさせると、がんに関連して発現が増加する自然免疫遺伝子の発現が抑制されることを見出した。テロメアの伸長に伴い、テロメアから転写される TERRA と呼ばれる RNA 産物が増加することから、合成した TERRA をがん細胞に導入したところ、テロメラーゼを強制発現した場合と同様に、自然免疫遺伝子の発現が抑制された。以上のことから、がん細胞は、テロメアを短く維持することで、TERRA の発現を抑制し、がん細胞の維持に有利な遺伝子発現環境を実現していると考えた。TERRA はグアニン塩基に富み、グアニン四重鎖 (G4) と呼ばれる立体構造を取ることが知られている。合成した G4 RNA ある

いは G4 DNA をがん細胞に導入したところ、この場合も自然免疫遺伝子の発現が抑制されたことから、自然免疫遺伝子の発現は TERRA の持つ G4 構造により制御されていることが示された。これとは別に清宮は、神経膠腫幹細胞が、非幹細胞に比べて G4 安定化剤に対し強く増殖阻害を受けることを発見した。G4 安定化剤により DNA 二重鎖切断が増加したこと、幹細胞で亢進している c-myc 発現が抑制されること、c-myc 遺伝子のプロモーターに G4 構造が形成されることから、神経膠腫幹細胞は、G4 により制御されるがん遺伝子に大きく依存していることが示された。以上から、DNA の形成する局所的な立体構造が遺伝子発現の制御に深く関与していること、およびそういった構造ががん細胞の治療標的になりうることが明らかとなった。

近年、DNA の塩基配列に直接関係しない遺伝子の発現変化および形質の変化が次世代に引き継がれることが明らかになりつつある。このような状況から、生物の形質決定プロセスにおけるエピジェネティクスの重要性がますます高まっている。石井（理研）は、発生初期のヘテロクロマチン形成が環境要因の影響を受けやすいこと、ATF2 タンパク質ファミリーの転写因子がストレスシグナルによる遺伝子発現およびクロマチン状態の制御に重要であること、そしてこれによって引き起こされる変化が遺伝しうることを、過去の知見も含めて報告した。ショウジョウバエやマウスをモデルとし、発生期の栄養状態と寿命との関係や、精神的ストレスと行動との関係などについて注目すべきデータを示した。一方、太田（東大）は非モデル生物である甲虫を実験材料として用いて、その形態が発生時の栄養状態に強く影響されること、ヒストンの修飾がそのような形態変化に関わることを明らかにした。このように、エピジェネティクスによる遺伝子発現制御は生物がその環境に適応する上で重要な役割を担っている事実が明らかになりつつある。

以上、当研究会では染色体の安定維持機構の分子レベルの研究、non-coding RNA とガン化の関係、エピジェネティクスと環境応答などの関係について集中した議論がたたかわされ、「クロマチン・デコーディング」機構の発展に大きな貢献をした。

2. 研究実績

研究プロジェクトの各メンバーが期待以上の成果を報告したことに加え、高等研カンファレンスにおいて世界の最先端研究者の発表に触れることができたことは本年度の大きな収穫である。一例をあげれば、Ken-ichi Noma 博士 (Wistar Institute, USA) が従来より染色体凝縮に関わることで知られていたコンデンシン分子が RNA ポリメラーゼ II や III で転写される遺伝子と相互作用することで、これら遺伝子群をセントロメア近傍に移動させ、結果として間期核内での染色体空間配置の制御に関わることを示したことは、ミクロな素反応が集まって核内染色体配置というマクロな現象を創発しうることを示しており、国内・海外を問わず多くの参加者の興味を集めていた。

3. 研究の効果

3. 1 具体的な効果

研究会メンバーはそれぞれ多くの論文発表をはじめとする研究活動を活発に展開している。

3. 2 一般的な効果

本研究会を通して、これまで各研究者が取り組んでいたものとは異なる視点、アプローチによる研究展開が統合的なクロマチン研究に必要なことを学ぶことができた。

2014年度：

カンファレンス・レクチャー開催実績：

○高等研カンファレンス 2014 「クロマチン・デコーディング」
2014年5月12日～5月15日（於：高等研）

開催概要：

(1) 研究発表

プレナリートーク	3	(招待講演者3)
セッション	7	(招待講演25、short talks 2)
ポスター発表	31	(公募で選抜された若手研究者による発表)

プログラム : 別紙1参照

(2) 参加者の構成

招待講演者	27名	(海外 12名、国内15)
討論参加者	12名	(国内12)
ポスター発表者	31名	(国内31)
合計	70名	(海外12名、国内58)

これに加え、高等研関係者及び補助作業に従事する者など約44名が参加し、その結果、参加者総数は114名となった。

(3) 参加国・地域

日本・アメリカ・イギリス・カナダ・スイス・ドイツ

○高等研レクチャー2014「クロマチン・デコーディング」
2014年5月16日（於：東大伊藤謝恩ホール）

開催概要：

(1) 講演者 3名

Thomas R. Cech (コロラド大学ボルダー校)
John Abelson (カリフォルニア大学サンフランシスコ校)
Timothy J. Richmond (チューリッヒ工科大学)

プログラム : 別紙3参照

(2) 聴講者	約217名	事前申込者	198名	(申込数	275名)
		当日申込者	19名		

研究会開催実績：

第1回研究会 2015年3月19日～3月21日（於：高等研）

話題提供者：4名

大川 恭行	九州大学医学研究院先端医療医学部門准教授
小布施 力史	北海道大学生命科学院生命融合科学コース教授
清宮 啓之	公益財団法人がん研究会がん化学療法センター 分子生物治療研究部部長
広田 亨	公益財団法人がん研究会がん研究所実験病理部部長

その他参加者：2名

関根 弘樹	東北大学加齢医学研究所遺伝子発現制御分野助教
山尾 文明	国際高等研究所所長補佐

国際高等研究所 研究プロジェクト
「クロマチン・デコーディング」
2013年度第1回（通算第1回）研究会プログラム

日 時：2014年 3月28日（金） 14：00～18：00
3月29日（土） 9：30～18：00
3月30日（日） 9：30～12：00

場 所：国際高等研究所 216号室（2F）

出席者：（27人）

研究代表者	** 石川 冬木	京都大学大学院生命科学研究科教授
参加研究者	有吉 眞理子	京都大学・物質-細胞統合システム拠点特任准教授
	** 五十嵐 和彦	東北大学大学院医学系研究科教授
	** 石井 俊輔	理化学研究所・石井分子遺伝学研究室上席研究員
	岩間 厚志	千葉大学大学院医学研究院教授
	太田 邦史	東京大学大学院総合文化研究科教授
	** 影山 龍一郎	京都大学ウイルス研究所・物質-細胞統合システム拠点教授
	** 胡桃坂 仁志	早稲田大学理工学術院先進理工学部研究科教授
	** 塩見 美喜子	東京大学大学院理学系研究科教授
	** 白髭 克彦	東京大学分子細胞生物学研究所教授
	眞貝 洋一	理化学研究所・眞貝細胞記憶研究室主任研究員
	** 立花 誠	徳島大学疾患酵素学研究センター教授
	中西 真	名古屋市立大学大学院医学研究科教授
	西田 栄介	京都大学大学院生命科学研究科教授
	** 平岡 泰	大阪大学大学院生命機能研究科教授
	** 深川 竜郎	国立遺伝学研究所分子遺伝研究部門教授
	村上 洋太	北海道大学大学院理学研究院科学部門教授
	本橋 ほづみ	東北大学加齢医学研究所遺伝子発現制御分野教授
	森川 耿右	国際高等研究所チーフリサーチフェロー
	**：スピーカー	

話題提供者（ゲストスピーカー）

木村 宏	大阪大学生命機能研究科准教授
高木 雄一郎	Department of Biochemistry and Molecular Biology Indiana University of Medicine
高橋 秀尚	北海道大学大学院医学研究科助教
田中 智之	University of Dundee College of Life Sciences
舛本 寛	かずさDNA研究所先端研究部細胞工学研究室室長
横山 明彦	京都大学大学院医学研究科特定准教授

その他参加者

定家 真人	京都大学大学院生命科学研究科助教
樽本 雄介	京都大学大学院生命科学研究科助教

3月28日(金)

14:00-14:40

「ヒストン翻訳後修飾と転写活性化の生細胞動態」
木村 宏 大阪大学生命機能研究科准教授

14:40-15:20

「コヒーシンの転写制御とコヒーシン病」
白髭 克彦 東京大学分子細胞生物学研究所教授

15:20-16:00

「セントロメアに特異的なクロマチン構造」
深川 竜郎 国立遺伝学研究所分子遺伝研究部門教授

16:00-16:30

break 30 min

16:30-17:20

"Kinetochore-microtubule error correction is driven by differentially regulated interaction modes"
田中 智之 University of Dundee College of Life Sciences

17:20-18:00

「ヒト人工染色体を用いたセントロメアとヘテロクロマチンの集合機構の解析」
舛本 寛 かずさDNA研究所先端研究部細胞工学研究室室長

3月29日(土)

9:30-10:10

「遺伝子発現振動の分子機構と意義：体節形成と神経分化の場合」
影山 龍一郎 京都大学ウイルス研究所物質-細胞統合システム拠点教授

10:10-10:50

「ホルメーシスの分子機構」
石川 冬木 京都大学大学院生命科学研究科教授

10:50-11:10

break 20 min

11:10-11:50

「クロマチンのエピジェネティック制御における核膜の役割」
平岡 泰 大阪大学大学院生命機能研究科教授

11:50-13:00

昼食

13:00-13:40

「セントロメアタンパク質 CENP-A によって誘起されるクロマチン構造の多様性」
胡桃坂 仁志 早稲田大学理工学術院先進理工学研究科教授

13:40-14:30

“Mediator of Transcription Regulation: Tackling the complexity – Protein engineering, Structure and Functions”
高木 雄一郎 Department of Biochemistry and Molecular Biology
Indiana University School of Medicine

14:30-15:10

「Med26 は Little elongation complex をリクルートすることで small nuclear RNA 遺伝子の発現を制御する」
高橋 秀尚 北海道大学大学院医学研究科助教

- 15:10-15:40 break 30 min
- 15:40-16:20 「転写因子による B 細胞-形質細胞分化調節ネットワーク」
五十嵐 和彦 東北大学大学院医学系研究科教授
- 16:20-17:00 「卵子に多いヒストンバリエントによる体細胞のリプログラミング」
“Reprogramming of somatic cells by oocyte-enriched histone variants”
石井 俊輔 理化学研究所・石井分子遺伝学研究室上席研究員
- 17:00-17:40 「PIIW-interacting RNA による生殖ゲノム品質管理の仕組み」
塩見 美喜子 東京大学大学院理学系研究科教授
- 3 月 30 日 (日)
- 9:30-10:10 「ヒストン脱メチル化によるほ乳類の性決定制御」
立花 誠 徳島大学疾患酵素学研究センター教授
- 10:10-10:30 break 20 min
- 10:30-11:10 「白血病がん遺伝子産物 MLL fusion が認識するクロマチンコンテキスト」
横山 明彦 京都大学大学院医学研究科特定准教授
- 11:10-11:50 「ポリコーム群ヒストン修飾による造血幹細胞の機能制御」
岩間 厚志 千葉大学大学院医学研究院教授

国際高等研究所 研究プロジェクト
「クロマチン・デコーディング」
2014年度第1回（通算第2回）研究会プログラム

日 時：2015年 3月19日（木） 14：00～17：15
3月20日（金） 9：30～17：00
3月21日（土） 9：30～12：05

場 所：国際高等研究所 216号室（2F）

出席者：（23人）

研究代表者（代）	森川 耿右	国際高等研究所チーフリサーチフェロー
参加研究者	石井 俊輔	理化学研究所・石井分子遺伝学研究室上席研究員
	岩間 厚志	千葉大学大学院医学研究院教授
	太田 邦史	東京大学大学院総合文化研究科教授
	木村 宏	東京工業大学生命理工学研究科教授
	胡桃坂 仁志	早稲田大学理工学術院先進理工学部研究科教授
	定家 真人	京都大学大学院生命科学研究科助教
	眞貝 洋一	理化学研究所眞貝細胞記憶研究室主任研究員
	立花 誠	徳島大学疾患酵素学研究センター教授
	樽本 雄介	京都大学大学院生命科学研究科助教
	中西 真	名古屋市立大学大学院医学研究科教授
	中山 潤一	名古屋市立大学大学院システム自然科学研究科教授
	平岡 泰	大阪大学大学院生命機能研究科教授
	深川 竜郎	国立遺伝学研究所分子遺伝研究部門教授
	舛本 寛	（公財）かずさDNA研究所細胞工学研究室室長
	村上 洋太	北海道大学大学院理学研究院科学部門教授
	本橋 ほづみ	東北大学加齢医学研究所遺伝子発現制御分野教授

**：スピーカー

話題提供者（ゲストスピーカー）

大川 恭行	九州大学医学研究院先端医療医学部門准教授
小布施 力史	北海道大学生命科学院生命融合科学コース教授
清宮 啓之	公益財団法人がん研究会がん化学療法センター 分子生物治療研究部部長
広田 亨	公益財団法人がん研究会がん研究所実験病理部部長

その他参加者

関根 弘樹	東北大学加齢医学研究所遺伝子発現制御分野助教
山尾 文明	国際高等研究所 所長補佐

3月19日(木)

14:00-14:35

「脊椎動物におけるキネトコアの集合機構」
深川 竜郎 国立遺伝学研究所分子遺伝研究部門教授

14:35-15:10

「セントロメア・サテライトDNAへのCENP-Aとヘテロクロマチンの集合機構」
舩本 寛 (公財) かずさDNA研究所細胞工学研究室室長

15:10-15:45

“G-quadruplex, a potential modifier of cancer behavior and a target for the therapeutic intervention”

清宮 啓之 公益財団法人がん研究会がん化学療法センター
分子生物治療研究部部長

15:45-16:05

break 20 min

16:05-16:40

「生細胞・生体内のエピゲノム修飾と転写のダイナミクス」
木村 宏 東京工業大学生命理工学研究科教授

16:40-17:15

「甲虫の表現型可塑性とエピジェネティクス」
太田 邦史 東京大学大学院総合文化研究科教授

18:00-

懇親会(ホテルけいはんなプラザホテル閑清居にて)

3月20日(金)

9:30-10:05

「ヘテロクロマチン構造形成におけるCLRC複合体の役割」
中山 潤一 名古屋市立大学大学院システム自然科学研究科教授

10:05-10:40

「HP1結合因子とヘテロクロマチンの構造と機能」
小布施 力史 北海道大学生命科学院生命融合科学コース教授

10:40-10:55

break 15 min

10:55-11:30

“HP1-assisted Aurora B kinase activity prevents chromosome segregation errors”
広田 亨 公益財団法人がん研究会がん研究所実験病理部部長

11:30-12:05

「jmjCドメインタンパク質Epe1によるエピゲノム制御」
村上 洋太 北海道大学大学院理学研究院科学部門教授

12:05-13:30

昼食

13:30-14:05

「Eset/Setdb1ヒストンメチル化酵素による造血制御」
岩間 厚志 千葉大学大学院医学研究院教授

- 14:05-14:40 「H3K9 メチル化酵素 Jmjd1a とそのアイソザイム Jmjd1b はマウスの胚発生に必須である」
立花 誠 徳島大学疾患酵素学研究センター教授
- 14:40-15:00 break 20 min
- 15:00-15:35 「H3K9 メチル化酵素 Suv39h1 によるヘテロクロマチン確立・維持機構」
眞貝 洋一 理化学研究所・眞貝細胞記憶研究室主任研究員
- 15:35-16:10 「ヒストンバリエントが制御する骨格筋分化能」
大川 恭行 九州大学医学研究院先端医療医学部門准教授
- 16:10-16:25 break 15 min
- 16:25-17:00 「組織特異的なヌクレオソームの構造と機能」
胡桃坂 仁志 早稲田大学理工学術院先進理工学部研究科教授
- 17 : 15- 懇親会（国際高等研究所にて）
- 3月21日（土）
- 9:30-10:05 “Acetylation of histone H4 residues required for loosening chromatin during DNA replication”
平岡 泰 大阪大学大学院生命機能研究科教授
- 10:05-10:40 「IDH1 遺伝子変異による NRF2 機能抑制と代謝リプログラミング」
本橋 ほづみ 東北大学加齢医学研究所遺伝子発現制御分野教授
関根 弘樹 東北大学加齢医学研究所遺伝子発現制御分野助教
- 10:40-10:55 break 15 min
- 10:55-11:30 「環境要因によるエピゲノム変化と記憶」
Epigenome change induced by environmental factors and its memory
石井 俊輔 理化学研究所・石井分子遺伝学研究室上席研究員
- 11:30-12:05 「哺乳動物細胞はどうやって細胞老化誘導を決めているのか？」
中西 真 名古屋市立大学大学院医学研究科教授
- 12 : 05- 昼食後解散