

クロマチン・デコーディング

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

細胞の中心には核が存在し、その中には生命体の設計図であるDNAが存在する。約2万個の遺伝子からなるゲノムDNAは、紙に書かれた設計図とは異なり、必要な場合には効率よく読み取られ、必要ないときには奥深くしまっておく動的な出し入れをおこなう。このようなゲノムの動的制御は、DNAが蛋白質と結合してクロマチンとして振る舞うことで初めて可能である。本研究では、クロマチンの時空間における制御機構研究の現状と今後の方向性を議論する。



参加研究者リスト

氏名	所属・役職
石川 冬木	京都大学大学院生命科学研究科教授
有吉 真理子	京都大学大学院工学研究科特任研究員
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
上田 泰己	東京大学大学院医学系研究科教授
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教授/物質-細胞統合システム拠点副拠点長
木村 宏	東京工業大学大学院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
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
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 大阪大学大学院生命機能研究科教授
舩本 寛	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教授
本橋 ほづみ	東北大学加齢医学研究所教授
森川 耿右	京都大学大学院生命科学研究科研究員

研究目的と方法

クロマチンの最小単位は、約146塩基対のDNAが8個のヒストン蛋白質複合体(ヒストンオクタマー)の周囲に約1.75回巻き付くヌクレオソームである。ヒストンの研究は半世紀前にさかのぼり、1990年代には、ヌクレオソームの原子レベルでの構造解析が行われた。一方、同じ頃より、ヒストンのアセチル化をはじめとする化学修飾とクロマチン構造機能との関連がヒストンコードとして提唱され、これまでにヒストンを構成する数多くのアミノ酸の特異的な化学修飾が同定され、それぞれのコードが意味する生物学的意義と、実際に修飾を行う酵素が数多く同定されてきた。特に、2000年代より格段の進歩を示した高効率DNA塩基配列決定装置(Next generation sequencing、以下NGS)の応用によって、特定の細胞の特定の機能段階で、どのようなヒストン修飾がもたらされるのかをゲノムワイドで解析することが可能となり、ヒストンの動的変化の解析が大きく進歩した。

ヒストンコードに代表されるDNAと蛋白質の離合集散制御は、クロマチン研究の枠組みと方法論は研究の拡がりをもたらす一方で、研究方法が定型化したことによって研究の深みの重層化に必ずしも大きな貢献をしたとは限らなかった。本研究においては、ポスト・ヒストンコードにおける新たなクロマチン研究の方向性を検討した。

研究プロジェクトの総括

本研究では、3回の研究会と1回の高等研カンファランスを開催して討論を行った。

研究会

第1回(2014年3月28~30日)、第2回(2015年3月19日~21日)、第3回(2015年12月19日~20日)の研究会を実施した。研究会で行われた発表の中で特筆すべきものを以下に示す。

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。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)。

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。

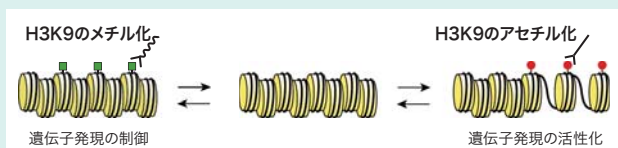


図1 ヒストンの化学修飾と遺伝子活性

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。

木村宏氏(東工大)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。

小布施力史氏(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、ヘテロクロマチン蛋白質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。小布施氏が同定した新規の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換え機構が変換される事実が明らかとなった。

高等研カンファランス「クロマチン・デコーディング」

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ランス「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。

高等研カンファランスには、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た。

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った。

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・学部学生向けの講演が行われ、230名にもおよぶ大勢の聴衆を集めた。講演後の活発な質疑など、今後クロマチン研究に携わる若い研究者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。

以上の研究会とカンファランスにおける討議から明らかになったことをまとめると以下の通りである。

1) 遺伝子機能を理解する上でヒストン・ヌクレオソーム機能制御を明らかにすることは益々重要になっている。ヌクレオソームの静的なスナップショットはこれまでの研究によって十分なデータの蓄積がある。今後、ヌクレオソームのDNAへの取り込み・離脱反応、複数のヌクレオソームがどのような高次構造をとるのか、各種ヒストンコードの組み合わせの生物学的意義、クロマチン修飾の動的側面の解析などが重要であると思われる。

2) RNAはDNAにコードされた遺伝子が転写によって生み出される。一方、転写されたRNAにはさまざまな因子が結合することができ、RNAとそれを生み出したDNAの相補性を用いることによって、それらの因子を当該遺伝子領域にリクルートすることができる。このように、RNAはDNA転写反応を介した最も直接的なフィードバック機構を構成する。今後、それを利用したクロマチン制御機構の更なる解明が期待される。

3) 遺伝子は、「DNA→RNA→蛋白質」のセントラル・ドグマによって一方的に環境に働きかけるのではない。遺伝子は、環境の変化を感知し生物の生存・再生産を有利におこなうために、環境と双方向性の反応を行っている。今後、老化、がん、脳機能など、画一的な実験環境下ではなく、野生環境下で重要な意味をもつ高次生命現象の理解のためには、環境→遺伝子の逆方向性作用(retrograde response)に注目する必要がある。

おわりに

本研究会における討論によって、それぞれの研究者が、今後のクロマチン研究の方向性に関して、それぞれのアイデアを胸に秘めることができた。本研究会を開催して下さった国際高等研究所に深甚の謝意を表するものである。また、本研究会参加者は、今後同様の活動(大人の染色体ワークショップ)を継続することを誓い、2016年度にはその第1回会議を開催する予定であることを報告したい。これも本研究会の貴重な成果のひとつである。

