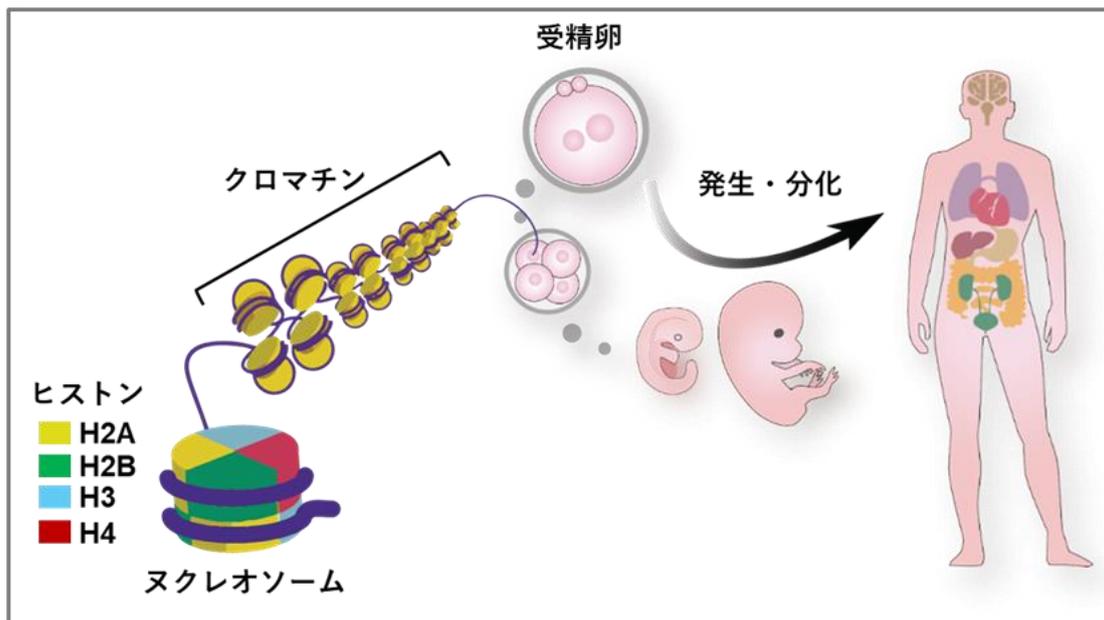


クロマチン研究 ～ゲノム・タンパク質・細胞からの理解～

講演要旨集



コーディネーター :

胡桃坂 仁志 東京大学 定量生命科学研究所 クロマチン構造機能研究分野 教授
大川 恭行 九州大学 生体防御医学研究所 トランスクリプトミクス分野 教授

日時 : 2025年1月17日(金) 11:20~17:10

会場 : 千里ライフサイエンスセンタービル 5F
山村雄一記念ライフホール (WEB配信併用)

主催 : 公益財団法人 千里ライフサイエンス振興財団

後援 : バイオコミュニティ関西

【表紙イラストの解説】

4 種類のヒストンタンパク質（H2A、H2B、H3、H4）がコアを形成して、その周りに DNA が巻き付いてヌクレオソームを形成している。ヌクレオソームが連なってクロマチンが形成され、DNA が細胞核に収納されている。受精卵が細胞分裂することで増殖し、その際に細胞の種類によって遺伝子のオン・オフが制御されることで、さまざまな臓器に分化してゆく。この細胞分化を誘導する遺伝子の制御は、クロマチンの構造の違いによって行われている。

【東京大学 定量生命科学研究所 胡桃坂仁志 先生 提供】

開催の趣旨

東京大学 定量生命科学研究所 クロマチン構造機能研究分野 教授

くるみざか ひとし

胡桃坂 仁志

九州大学 生体防御医学研究所 トランスクリプトミクス分野 教授

おおかわ やすゆき

大川 恭行

19世紀後半に Walther Flemming は染色体を発見した。染色体では、DNA が4種類のヒストンタンパク質によって折り畳まれて“クロマチン”と呼ばれる繊維状の構造を形成している。1974年にクロマチンの基盤構造“ヌクレオソーム”が発見されたが、その機能は長大なゲノム DNA を折り畳むことのみと考えられていた。しかし近年、クロマチン構造が、ゲノム DNA の制御に重要な役割を果たすことが明らかになってきた。本シンポジウムでは、クロマチンによる DNA 制御について、最新の知見を含めて紹介する。

プログラム

11:20～11:25

開会の挨拶 公益財団法人 千里ライフサイエンス振興財団 理事長

審良 静男

11:25～11:40

はじめに

東京大学 定量生命科学研究所 クロマチン構造機能研究分野 教授

胡桃坂 仁志

11:40～12:20 座長：胡桃坂 仁志

演題 1 単一細胞マルチオミクスによる骨格筋分化制御機構の解明 …………… 3

九州大学 生体防御医学研究所 トランスクリプトミクス分野 教授

大川 恭行

12:20～13:00 座長：胡桃坂 仁志

演題 2 乳がんの再発に関わるクロマチン相互作用 RNA …………… 7

公益財団法人がん研究会 がん研究所 がん生物部 部長

斉藤 典子

13:00～14:10

昼 食

14:10～14:50 座長：胡桃坂 仁志

演題 3 染色体工学技術によるデザイナー細胞・動物の作製と応用 …………… 11

鳥取大学 医学部 生命科学科 染色体医工学講座 教授

香月 康宏

14:50～15:30 座長：大川 恭行

演題 4 精子形成過程におけるヒストン-プロタミン置換の追跡 …………… 14

東京大学 定量生命科学研究所 病態発生制御研究分野 教授

岡田 由紀

15:30～15:40

休 憩

15:40～16:20 座長：大川 恭行

演題 5 遺伝子発現とクロマチンの生細胞ダイナミクス …………… 17

東京科学大学 総合研究院 細胞制御工学研究センター 教授

木村 宏

16:20～17:00 座長：大川 恭行

演題 6 クロマチンが遺伝情報をコントロールする仕組み …………… 21

東京大学 定量生命科学研究所 クロマチン構造機能研究分野 教授

胡桃坂 仁志

17:00～17:10

おわりに

九州大学 生体防御医学研究所 トランスクリプトミクス分野 教授

大川 恭行

※ 記載の時間は質疑応答を含みます。ご注意ください。

..... **MEMO**

演題 1

単一細胞マルチオミクスによる骨格筋分化制御機構の解明

九州大学 生体防御医学研究所 トランスクリプトミクス分野 教授

大川 恭行 (おおかわ やすゆき)

学歴・職歴

2003年 大阪大学大学院 医学研究科博士課程修了、博士 (医学)
2003年 マサチューセッツ大学医学部 ポストドクトラルフェロー
2006年 九州大学医学研究院 エピジェネティクス分野 特任准教授
2011年 九州大学医学研究院 先端医療医学部門 准教授
2016年 九州大学 生体防御医学研究所 教授 (現在まで)
2021年 九州大学 生体防御医学研究所医学研究所附属トランスオミクス医学研究センター長
2021年 九州大学 生体防御医学研究所副所長
2024年 九州大学 生体防御医学研究所所長

学 位 博士 (医学)

受賞歴

2013年 文部科学大臣表彰 若手科学者賞
2023年 文部科学大臣表彰 科学技術賞

所属学会 日本生化学会、日本筋学会 (理事)、日本分子生物学会、
トランスクリプトミクス研究会 (代表理事)

専門分野 クロマチン、骨格筋生物学、オミクス

公職・その他

日本筋学会 理事、日本エピジェネティクス研究会 幹事、大阪大学 産業科学研究所 招聘教授、
熊本大学 発生医学研究所 客員教授、徳島大学 先端酵素学研究所 客員教授

要 旨

生命科学の研究において、ヒトならばゲノム上の変異、モデル生物ならば特定の遺伝子に着目した遺伝子改変による介入が行われ、組織レベルの形態や遺伝子発現の変化を評価し、機能解明が行われてきた。近年は、解析技術の進展により、特定の細胞の種類、つまり細胞型レベルでの解析が行われ、機能に関わる細胞の種類や変化が明らかになりつつある。特に、単一細胞トランスクリプトーム技術、scRNAseqの普及により、細胞型の決定からトランスクリプトームの類似性から系譜解析まで一般的に行われるようになってきた。現在は更に、この変化の制御機構の理解するため、遺伝子発現の選択機序や細胞のポテンシャルの理解の取り組みが行われている。その手法が、単一細胞エピゲノム解析であり、細胞のポテンシャルである転写の選択性を転写前に解析することが原理的に可能である。私たちは2019年に世界初の単一細胞エピゲノム解析技術を開発し、骨格筋再生における骨格筋幹細胞のエピゲノム制御の解明に取り組んできた(図1)。これまでに、骨格筋幹細胞には、分化能に不可欠な幹細胞特異的なエピゲノム状態が存在していること、更に、この骨格筋幹細胞のエピゲノム状態は幹細胞ニッチにおけるさまざまな周辺細胞との相互作用で制御されていることを報告してきた。今後の幹細胞の制御の理解にはエピゲノムと細胞間相互作用の双方の理解が不可欠と言える。

そこで、本講演では、エピゲノムと細胞間相互作用を明らかにすることで骨格筋老化メカニズムの解明への取り組みを紹介する。空間オミクスと呼ばれる最新技術の開発(図2)を含め、これらを駆使した組織プロファイリング法について触れたい。

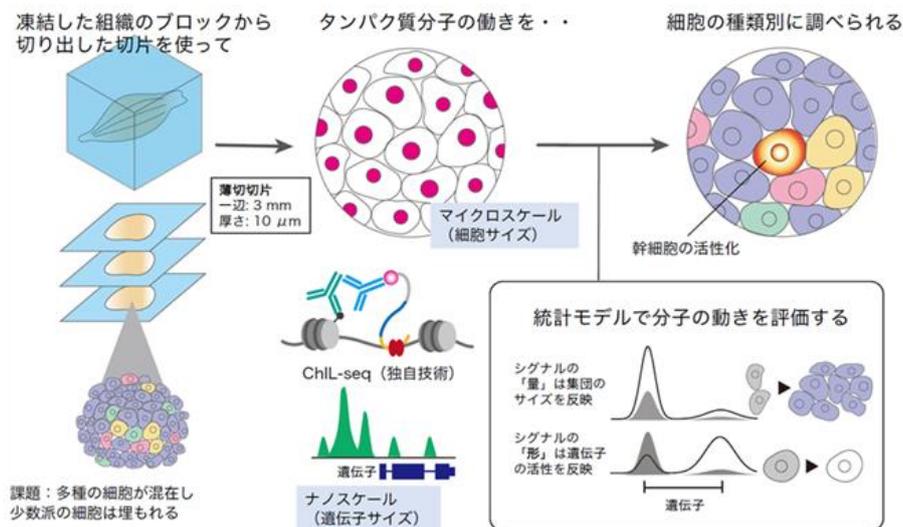


図1. 高感度なChIL-seqと統計モデルを組み合わせ、多数細胞に埋もれないエピゲノム解析を可能にした。

- Y. Precise immunofluorescence canceling for highly multiplexed imaging to capture specific cell states. *Nat Commun.* 2024 May 8;15(1):3657. doi: 10.1038/s41467-024-47989-9. PMID: 38719795; PMCID: PMC11078938.
5. Handa T, Harada A, Maehara K, Sato S, Nakao M, Goto N, Kurumizaka H, Ohkawa Y, Kimura H. Chromatin integration labeling for mapping DNA-binding proteins and modifications with low input. *Nat Protoc.* 2020 Oct;15(10):3334-3360. doi: 10.1038/s41596-020-0375-8. Epub 2020 Aug 17. Erratum in: *Nat Protoc.* 2024 Apr;19(4):1288. doi: 10.1038/s41596-023-00940-6. PMID: 32807906.
 6. Harada A, Maehara K, Handa T, Arimura Y, Nogami J, Hayashi-Takanaka Y, Shirahige K, Kurumizaka H, Kimura H, Ohkawa Y. A chromatin integration labelling method enables epigenomic profiling with lower input. *Nat Cell Biol.* 2019 Feb;21(2):287-296. doi: 10.1038/s41556-018-0248-3. Epub 2018 Dec 10. PMID: 30532068.

演題2

乳がんの再発に関わるクロマチン相互作用 RNA

公益財団法人がん研究会 がん研究所 がん生物部 部長

齊藤 典子 (さいとう のりこ)

学歴・職歴

1987年 東北大学農学部農芸化学科 卒業
1989年 東北大学大学院農学研究科博士課程前期終了（農学修士取得）
1996年 The Johns Hopkins University, School of Medicine
Graduate Program in BCMB 修了（Ph.D.取得）
1996年 National Institute of Health ポストドクトラルフェロー
1998年 Cold Spring Harbor Laboratory ポストドクトラルフェロー
2001年 九州大学大学院医学研究科 特別研究員
2002年 熊本大学発生医学研究センター 研究員
2006年 熊本大学発生医学研究所 助教
2013年 熊本大学発生医学研究所 准教授
2017年 がん研究会がん研究所がん生物部 部長
東京医科歯科大学大学院連携教員（兼務）

学位 Ph. D.

受賞歴

2015年度 国立大学法人熊本大学研究活動表彰
2016年度 国立大学法人熊本大学研究活動表彰
2017年度 アステラス病態代謝研究会優秀発表賞

所属学会 日本癌学会（評議員）、日本分子生物学会（理事）、
日本エピジェネティクス研究会（幹事）、日本細胞生物学会、日本生化学会

専門分野 腫瘍医学（乳がん）、分子生物学、細胞生物学

主な著書（原著論文）

1. Palihati M., Saitoh, N. RNA in chromatin organization and nuclear architecture. *Curr. Opin. Genet. Develop.*, 86, 102176, 2024.
2. Fukuoka, M., Ichikawa, Y., Osako, T., Fujita, T., Baba, S., Takeuchi, K., Tsunoda, N., Ebata, T., Ueno, T., Ohno, S., Saitoh, N. The ELEANOR non-coding RNA expression contributes to cancer dormancy and predicts late recurrence of ER-positive breast cancer. *Cancer Sci.*, 113, 2336-2351, 2022.

3. Saitoh, N., Gasser, S. M. Nadeshiko revisited: The situation of women in Japanese research and the measures taken to increase their representation. *EMBO Rep.*, 22, e52528, 2021.
4. Abdalla, M.O.A., Yamamoto, T., Maehara, K., Ohkawa, Y., Miura, H., Hiratani, I., Nakayama, H., Nakao, M., Saitoh, N. The Eleanor ncRNAs activate the topological domain of the ESR1 locus to balance against apoptosis. *Nat. Commun.*, 10, 3778, 2019.
5. Tomita, S., Abdalla, M. O. A., Fujiwara, S., Matsumori, H., Maehara, K., Ohkawa, Y., Iwase, H., Saitoh, N., Nakao, M. A cluster of noncoding RNAs activates the *ESR1* locus during breast cancer adaptation. *Nat. Commun.*, 6, 6966, 2015.
6. Saitoh, N., Spahr, C. S., Patterson, S.D., Bubulya, P., Neuwald, A.F, Spector, D.L. Proteomics analysis of interchromatin granule clusters. *Mol. Biol. Cell*, 15, 3876-3890, 2004.
7. Saitoh, N., West, A., Recillas-Targa, F., Pikaart, M.J., Felsenfeld, G. Structural and functional conservation at the boundaries of the chicken beta-globin domain. *EMBO J.*, 19, 2315-2322, 2000.
8. Saitoh, N., Goldberg, I. G., Wood, E. R., Earnshaw, W. C. ScII: An abundant chromosome scaffold protein is a member of a family of putative ATPases with an unusual predicted tertiary structure. *J. Cell Biol.*, 127, 303-318, 1994.

公職・その他

日本学術会議連携会員

日本医学会連合 ゲノム編集技術の医学応用に関する検討作業部会委員

日本医療研究開発機構 医療分野国際科学技術共同研究開発推進事業（先端国際共同研究推進プログラム ASPIRE）プログラムオフィサー

日本医療研究開発機構 ゲノム医療実現推進プラットフォーム・先端ゲノム研究開発（GRIFIN）プログラムオフィサー

FASEB Journal (Associate Editor), Journal of Biochemistry (Associate Editor), Cancer Science (Associate Editor), Scientific Reports (Editorial Board), Molecular Biology of the Cell (Editorial Board)

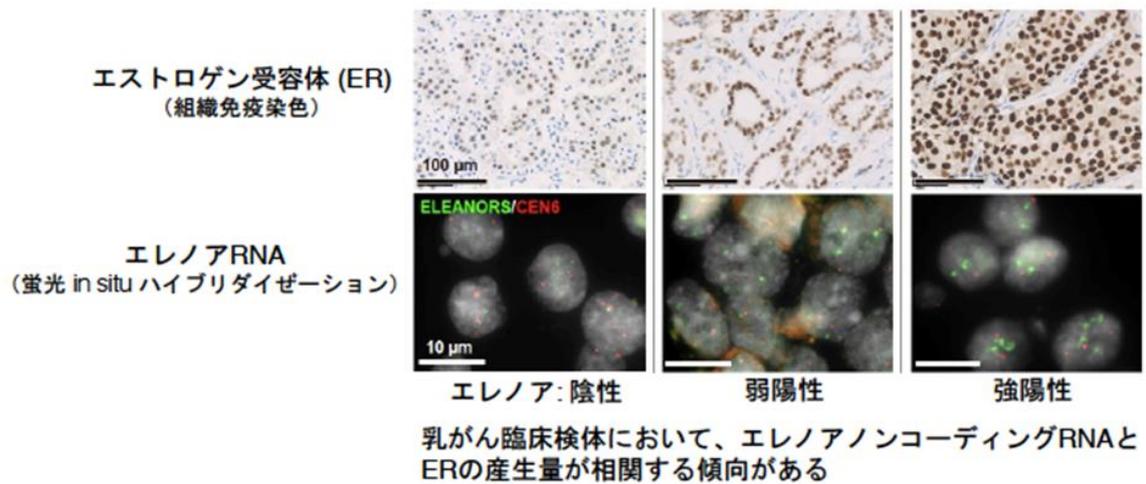
要 旨

真核生物のゲノム DNA は全長およそ 2m の紐状物質であるが、直径 10nm ほどの小さな細胞核に収められるために、クロマチンとよばれる構造を形成し、何重にも折りたたまれる。このゲノムの立体構造は、遺伝子の発現（ゲノム DNA に書き込まれた遺伝子が RNA に転写されてタンパク質へと翻訳され、細胞内で機能すること）を制御する。近年、タンパク質をコードしないノンコーディング RNA が、ゲノムの立体構造形成を介して遺伝子の発現を制御する、新たなエピジェネティック制御因子であることがわかりつつある。ノンコーディング RNA の役割を明らかにし、疾患の診断マーカーや治療標的となる可能性を検証することが期待されている。

乳がんのおよそ 70%は、エストロゲン受容体(ER)陽性で、エストロゲン作用を阻害する内分泌療法が効果的だが、治療の間に耐性を獲得し、高い頻度で再発することが問題である。アロマターゼ阻害剤を用いた内分泌療法に耐性を獲得した再発乳がんには、エストロゲンを投与する「エストロゲン療法」で寛解するものがあり、その機序の解明が待たれていた。そこで我々は、ヒト ER 陽性乳がん細胞株 MCF-7 から樹立される LTED (long term estrogen deprivation) という再発乳がんモデル細胞を用いて、乳がんの再発機構の解明に取り組んだ。その結果、LTED 細胞では、クロマチンに相互作用するノンコーディング RNA、エレノアが過剰発現し、核内でエレノアクラウドとよぶ凝集体を形成して ER をコードする *ESR1* 遺伝子の転写を活性化することや、エレノアの発現が LTED 細胞の増殖に必要であることがわかった。さらに Hi-C と呼ばれる技術を用いて、核内のクロマチン間相互作用の解析を行い、エレノアがメガベース単位の巨大なクロマチンドメインである TAD (topologically associating domain)を規定していることが明らかになった。

乳がんの増殖に関わる *ESR1* 遺伝子は、エレノアを介して 42.9 Mb も離れている細胞死に関わる *FOXO3* 遺伝子と相互作用しており、このゲノムの立体構造によって、両遺伝子の転写が活性となることもわかった。エストロゲン療法を模して LTED 細胞をエストロゲンやレスベラトロールで処理したところ、あるいはエレノアを標的とする核酸試薬で処理したところ、エレノアクラウドが消失し、二つの遺伝子が離れ、*ESR1* の転写のみが抑制された。*FOXO3* 遺伝子は転写活性のままなので、細胞死と増殖のバランスが崩れて細胞死が誘導された。これらにより、エレノアノンコーディング RNA が長距離クロマチン間相互作用を介して細胞の増殖と死のバランスをとっていること、乳がんの治療標的となりうる可能性が示された。

さらに臨床検体の解析を行ったところ、原発巣におけるエレノアの陽性が、手術後 5 年以降の晩期再発に相関することが明らかになった。マウス異種移植片を用いた解析から、エレノアは *CD44* 遺伝子の転写を活性化してがん幹細胞を維持し、腫瘍があまり増殖しない「長期休眠」を支持し、がんを治療耐性にする働きがある可能性がみえてきた。今後、ノンコーディング RNA によるクロマチン制御を明らかにして、乳がんの本態の解明、診断と治療の開発に貢献したい。



Fukuoka et al, *Cancer Sci*, 2022改変

【参考文献】

1. Palihati M., Saitoh N. RNA in chromatin organization and nuclear architecture. *Current Opinion in Genetics & Development*, 86: 102176, 2024.
2. Fukuoka, M., Ichikawa, Y., Osako, T., Fujita, T., Baba, S., Takeuchi, K., Tsunoda, N., Ebata, T., Ueno, T., Ohno, S., Saitoh, N. The ELEANOR non-coding RNA expression contributes to cancer dormancy and predicts late recurrence of ER-positive breast cancer. *Cancer Science*, 113, 2336-2351, 2022.
3. Abdalla, M.O.A., Yamamoto, T., Maehara, K., Ohkawa, Y., Miura, H., Hiratani, I., Nakayama, H., Nakao, M., Saitoh, N. The Eleanor ncRNAs activate the topological domain of the ESR1 locus to balance against apoptosis. *Nat. Commun*, 10: 3778, 2019.
4. Tomita, S., Abdalla, M. O. A., Fujiwara, S., Matsumori, H., Maehara, K., Ohkawa, Y., Iwase, H., Saitoh, N., Nakao, M. A cluster of noncoding RNAs activates the ESR1 locus during breast cancer adaptation. *Nat. Commun* 6: 6966, 2015.

演題3

染色体工学技術によるデザイナー細胞・動物の作製と応用

鳥取大学 医学部 生命科学科 染色体医工学講座 教授

香月 康宏 (かづき やすひろ)

学歴・職歴

2000年3月 鳥取大学医学部生命科学科卒業
2002年3月 鳥取大学大学院医学系研究科博士前期課程修了
2004年9月 鳥取大学大学院医学系研究科生命科学系専攻博士後期課程修了
2003年4月～2005年3月 日本学術振興会特別研究員 (DC2/PD)
2005年4月～2014年12月 助教 (鳥取大学大学院医学系研究科、
2010年4月～ 染色体工学研究センター兼任)
2015年1月～2022年9月 准教授 (同上)
2022年10月～ 教授 (鳥取大学医学部生命科学科、染色体工学研究センター兼任、
2015年4月～ バイオモデル動物開発部門・部門長、
2018年4月～ とっとり創薬実証センター センター長
2022年4月～ 染色体工学研究センター 副センター長)

学位

2004年9月 博士 (生命科学)、鳥取大学

受賞歴

2013年 第28回日本薬物動態学会年会 奨励賞
2015年 平成26年度 鳥取大学学長表彰 研究功績賞
2015年 第62回日本実験動物学会総会 (第27回) 奨励賞
2016年 日本人類遺伝学 奨励賞
2019年 第3回バイオインダストリー奨励賞
2020年 第三回日本医療研究開発大賞 日本医療研究開発機構理事長賞
2023年 令和4年度 鳥取大学医学部研究功績賞
2023年 鳥取大学医学部 生命科学科特別賞
など

所属学会

日本実験動物学会、日本人類遺伝学会、日本分子生物学会、日本再生医療学会、
日本薬物動態学会、日本薬学会、American Society of Gene & Cell Therapy
(ASGCT)、日本エピジェネティクス研究会、日本毒性学会、日本ゲノム編集学会、
日本免疫学会

専門分野

染色体工学

公職・その他

2018 年度～ 日本実験動物学会 学術集会委員会

2020 年度～ 日本実験動物学会 評議員

要 旨

トランスジェニック技術は遺伝子を破壊または導入し、その表現型を解析することにより、これらの遺伝子がどのような機能を持つかを知る上で非常に重要な技術となっている。しかし、クローン化 DNA 断片を使用するこれまでのトランスジェニック技術では、細菌人工染色体 (BAC) を用いても導入可能な DNA サイズは通常 200kb が限界であり、1Mb を超える大きさを持つ遺伝子や遺伝子クラスターの導入は不可能であった。上述の課題を克服するために、我々は哺乳類細胞において自立複製・分配が可能なヒト人工染色体(human artificial chromosome:HAC) およびマウス人工染色体(mouse artificial chromosome:MAC)を構築し、Mb 単位の巨大なヒト遺伝子クラスターのマウス・ラットへの導入、すなわちトランスクロモソミック(Trans-chromosomal:TC)マウス・ラットの作製に世界で初めて成功した。これまでにヒト薬物代謝酵素遺伝子クラスター(1.5Mb)、ヒト抗体遺伝子群(3.5Mb)等を上記 HAC/MAC ベクターに搭載することに成功している。さらに、HAC/MAC へ巨大遺伝子を搭載した、いわば「Designed Chromosome」をマウスやラットに導入することで「Designed Animal」を作製し、疾患モデルマウスの発症メカニズムの解明と治療研究、完全ヒト抗体産生動物による抗体医薬品シーズの作製等、に取り組んできた。さらに、「Designed Chromosome」を用いた「Designed Cell」による基礎研究から応用研究にも取り組んでいる。本セミナーではヒト巨大遺伝子の機能解析、疾患モデルマウス・細胞による発症メカニズムの解明と治療研究、ヒト薬物代謝モデル動物や完全ヒト抗体産生動物による創薬研究への応用を中心に紹介し、最近取り組んでいる次世代の染色体工学技術についても紹介したい。

【参考文献】

1. Miyamoto H. et al., Rapid human genomic DNA cloning into mouse artificial chromosome via direct chromosome transfer from human iPSC and CRISPR/Cas9-mediated translocation. *Nucleic Acids Res.* 2024 Jan 5;gkad1218.
2. Satofuka H. et al., Efficient human-like antibody repertoire and hybridoma production in trans-chromosomal mice carrying megabase-sized human immunoglobulin loci. *Nat Commun.* 2022 April 5. ;13(1):1841.
3. Kazuki Y. et al., A transchromosomal rat model with human chromosome 21 shows robust Down syndrome features. *Am J Hum Genet.* 2022 Feb 3;109(2):328-344.
4. Kazuki Y. et al., A non-mosaic transchromosomal mouse model of down syndrome carrying the long arm of human chromosome 21. *Elife.* 2020 Jun 29;9:e56223.
5. Kazuki Y. et al., Humanized UGT2 and CYP3A transchromosomal rats for improved prediction of human drug metabolism. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2019;116(8):3072-3081.

演題4

精子形成過程におけるヒストン-プロタミン置換の追跡

東京大学 定量生命科学研究所 病態発生制御研究分野 教授

岡田 由紀 (おかだ ゆき)

学歴・職歴

2002年3月 北海道大学獣医学研究科 博士課程修了

2002年4月～2003年3月

北海道大学大学院医学研究科 分子細胞病理学教室/科学技術振興機構 CREST 研究員

2003年4月～2004年9月

北海道大学大学院医学研究科 分子細胞病理学教室/日本学術振興会 特別研究員(PD)

2004年10月～2005年3月

University of North Carolina at Chapel Hill, Postdoctoral fellow (NIH)

2005年4月～2007年3月

University of North Carolina at Chapel Hill/ 日本学術振興会 海外特別研究員

2007年4月～2007年10月

University of North Carolina at Chapel Hill/Howard Hughes Medical Institute, Postdoctoral fellow

2007年11月～2009年3月

University of North Carolina at Chapel Hill/Howard Hughes Medical Institute, Research Specialist

2009年3月～2010年3月

京大大学生命科学系キャリアパス形成ユニット 特定助教

2010年4月～2012年1月

京都大学学際融合教育研究推進センター 特定助教

2009年10月～2015年6月

科学技術振興機構 さきがけ研究員 (兼任)

2012年2月～2016年3月

東京大学分子細胞生物学研究所 特任准教授

2016年4月～2018年3月

東京大学分子細胞生物学研究所 准教授

2018年4月～2020年2月

東京大学定量生命科学研究所 准教授

2020年3月～現在

東京大学定量生命科学研究所 教授

学位 博士 (獣医学)

所属学会 日本分子生物学会、日本エピジェネティクス研究会、日本遺伝学会

専門分野 エピジェネティクス、生殖発生

受賞歴 2011年度 科学技術分野の文部科学大臣表彰 若手科学者賞

公職・その他 農林水産省・動物用組換えDNA技術応用医薬品調査会委員

要 旨

ほ乳類の雄性生殖細胞は減数分裂後、精子細胞と呼ばれる時期に入り、クロマチンからヒストンが脱落して精子特異的タンパク質プロタミンへと置換される。これによって精子核のクロマチンは高次に凝縮し、精子ゲノムは環境因子からの物理的保護を獲得する。マウスでは、精子細胞期は16の連続した分化ステップから構成される。この間に精子細胞核の形態はクロマチン凝縮によって大きく変化するにもかかわらず、各ステップの細胞を高純度で分画することは不可能である。この時期のクロマチン状態の変化を詳細に解析するためには、この技術的課題の解決が必須であった。

我々は、過去に当研究室で樹立したレポーターマウスラインを用いて、精子細胞を分化ステップ毎に単離する方法を開発した。この精製精子細胞を用いて、各分化ステップにおける精子のクロマチンアクセシビリティを解析した。その結果、精子細胞のクロマチンはヒストン-プロタミン置換期に一致して、一過性にゲノムワイドな開放状態になることがわかった。さらに、プロタミンはクロマチン開放領域に優先的に取り込まれた。一方、ヒストン-プロタミン置換異常によって不妊となる遺伝子改変マウスでは、このゲノムワイドなクロマチン開放が起こらなかった。以上のことから、プロタミンの効率的な取り込みには、クロマチンの弛緩状態が必要であることが示唆された。

さらに、ヒト精子のクロマチン解析を行い、個人間および精子間の不均一性を検証した。その結果、体細胞のクロマチンとは対照的に、Aコンパートメント領域よりもBコンパートメント領域でクロマチンアクセシビリティの増加が観察された。このパターンは臨床的に質の悪い精子検体では損なわれており、精子クロマチンが精子品質のマーカーとなり得ることが確認された。シングル精子解析では、質の悪い精子検体に「良い精子」が、質の良い精子検体に「悪い精子」が検出され、個々の精子間でクロマチンアクセシビリティが不均一であることが示された。これらの結果は、男性不妊症の診断におけるヒト精子クロマチン解析の有用性を示唆するものである。

【参考文献】

1. Makino Y. et al., *Front Cell Dev Biol.* 2014 Jul 23;2:30. doi: 10.3389/fcell.2014.00030.
2. Fujiwara Y., Hada M., et al., *Cytometry A.* 2024 Apr;105(4):297-307. doi: 10.1002/cyto.a.24812.
3. Kaneko & Okada. *Biology (Basel).* 2024 Jun 28;13(7):484. doi: 10.3390/biology13070484.

演題5

遺伝子発現とクロマチンの生細胞ダイナミクス

東京科学大学 総合研究院 細胞制御工学研究センター 教授

木村 宏 (きむら ひろし)

学歴・職歴

1987年3月 北海道大学理学部化学第二学科卒業
1989年3月 北海道大学大学院理学研究科化学第二専攻 修士課程 修了
1991年10月 北海道大学大学院理学研究科化学第二専攻 博士後期課程 中退
1991年11月 北海道大学 遺伝子実験施設 教務職員
1996年6月 オックスフォード大学 サーウィリアムダン病理学部 博士研究員
2002年2月 東京医科歯科大学 難治疾患研究所 助教授
2003年8月 京都大学 大学院医学研究科 先端領域融合医学研究機構
科学技術振興教授
2007年4月 情報通信機構 未来ICT研究センター 特任研究員
2007年10月 大阪大学 大学院生命機能研究科 准教授
2014年7月 東京工業大学 生命理工学研究科 教授
2017年4月 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 教授
2024年10月 東京科学大学 総合研究院 細胞制御工学研究センター 教授

学位

1996年3月 博士(理学)、北海道大学

受賞歴

2015年8月 Robert Feulgen Prize (Society for Histochemistry/国際組織化学学会)
2021年4月 令和3年度科学技術分野の文部科学大臣表彰

所属学会

日本分子生物学会、日本生物物理学会、日本エピジェネティクス研究会、
日本生物工学会

専門分野

分子生物学、細胞生物学、エピジェネティクス

公職・その他

2019年～ AMED-CREST/PRIME アドバイザー
2022年～ 日本学術振興会学術システム研究センター主任研究員
2022年～ JST さきがけ アドバイザー
2023年～ JST 創発 アドバイザー (2024-2025 プログラムオフィサー)
2023年～ 日本学術会議連携会員

要 旨

生物の遺伝情報はゲノム DNA に書き込まれており、ヒトなどの多細胞生物では一つ個体を構成する数十兆個に及ぶ細胞の DNA 配列は基本的に同一である。同一な遺伝情報をもつ細胞が固有の機能を持つためには、それぞれの細胞で特定の遺伝子が発現する必要がある [1]。そのため、遺伝子の発現がどのように調節されるのか、という問題は生命科学研究において常に關心を集めてきた。これまでに、生化学的な解析や遺伝学的な解析により、DNA から RNA に情報を転写する酵素である RNA ポリメラーゼや転写活性化に必要なタンパク質が数多く同定されてきた。また、真核生物では、細胞核に存在する DNA は、ヒストンと共にヌクレオソーム構造を形成し、さらに他のタンパク質や RNA と結合したクロマチンとして存在している。そのため、遺伝子発現制御におけるクロマチンの役割と分子機構の解明に向けた研究が進められており、ヒストンの多彩な翻訳後修飾やバリエーションが転写の抑制や活性化に関わっていることも明らかになってきた。実際、ヒストン修飾を制御する因子やヒストンそのものの変異ががんをはじめとした多くの病気の原因として見つかってきている。近年のゲノム解析技術の発展により、転写やクロマチン関連のタンパク質、あるいは、ヒストン修飾が特定の組織や細胞内の DNA 上でどのような場所に存在するのかについて網羅的に明らかにされてきている。また、それらのタンパク質の微細構造についての解明が進み、転写のメカニズムに関して急速に理解が進んでいる。しかしながら、生きた細胞内において、いつ、どこで、どのように転写が行われているのかについての全貌は未だ明らかではない。

我々は、生きた細胞内でのクロマチンと転写の動態を明らかにする目的で、ヒストンや RNA ポリメラーゼの翻訳後修飾を可視化するための蛍光プローブを開発してきた [2]。一般的に、ヒストンのリジン残基のアセチル化は転写の活性化、メチル化は転写の抑制に働いているが、修飾されるリジン残基の部位やメチル化のレベルに依存する。例えば、ヒストン H3 の 27 番目のリジン残基 (H3K27) のアセチル化 (H3K27ac) は転写活性化、トリメチル化 (H3K27me3) は細胞分化依存的な遺伝子発現抑制に働くことが知られており、それらの修飾の全体レベルや局在は発生・分化過程でダイナミックに変化する [3]。また、ほとんどの遺伝子の転写を担う RNA ポリメラーゼ II の最大サブユニットは 7 アミノ酸の繰返し配列からなる C 末端ドメインを持ち、その繰返し配列中の 5 番目のセリン残基は転写開始時、2 番目のセリン残基は転写伸長時にそれぞれリン酸化される (図 1) [4]。従って、翻訳後修飾

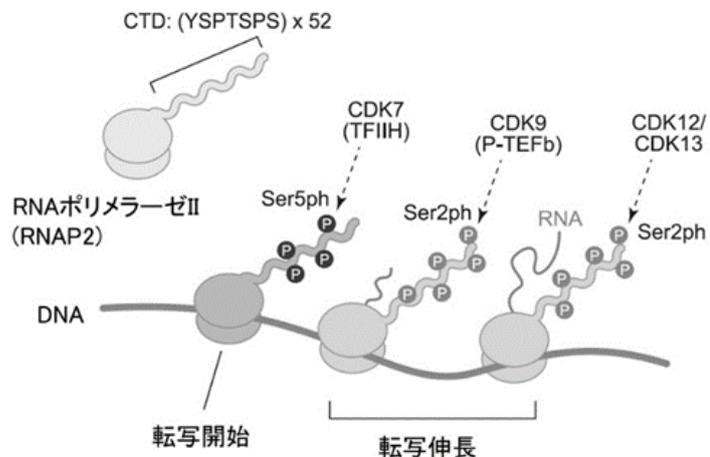


図1. RNAポリメラーゼII(RNAP2)の最大サブユニットのC末端ドメインには、Tyr-Ser-Pro-Thr-Ser-Pro-Serの繰返し配列が存在し、転写開始と伸長の過程で異なるリン酸化を受ける (Kimura et al, 2022より引用・改変)

を特異的に検出することで、特定の機能を持った分子のみを特異的に標識できる。実際、これらの修飾を検出するために、特異的抗体が開発され、使用されてきた [3]。我々は、修飾特異的モノクローナル抗体由来の一本鎖可変領域抗体と GFP を融合させたタンパク質を細胞内で発現させることに成功し、生きた細胞や個体レベルで特異的修飾のダイナミクスを追跡することが可能となった。これらの遺伝子コード型蛍光プローブを用いることで Mintbody (Modification-specific intracellular antibody、修飾特異的細胞内抗体) と呼ばれている (図 2) [2, 5]。

Mintbody や蛍光標識抗原結合断片を用いた生細胞解析により、ステロイドホルモン誘導性の転写活性化やゼブラフィッシュ初期胚のゲノム活性化を H3K27ac が促進することが明らかとなった [6, 7]。また、幹細胞が分化した際に起こる X 染色体の不活性化において、非コード RNA である Xist 依存的に H3K27me3 と H4 の 20 番目のリジンのモノメチル化 (H4K20me1) が同時に誘導されることも示された [8]。さらに、H4K20me1-Mintbody を全身で発現するマウスを作製し、H4K20me1 が初期胚の分化過程では不活性 X 染色体に蓄積するものの発生が進むにつれて消失することや減数分裂時の X-Y 染色体のペアリングの過程で起こる性染色体不活性化時に濃縮することが分かった [9]。このように、Mintbody を用いることで、培養細胞や個体レベルでのヒストン修飾や転写開始・伸長中の RNA ポリメラーゼ II の局在や動態を解明することが可能になってきている [4, 10, 11]。

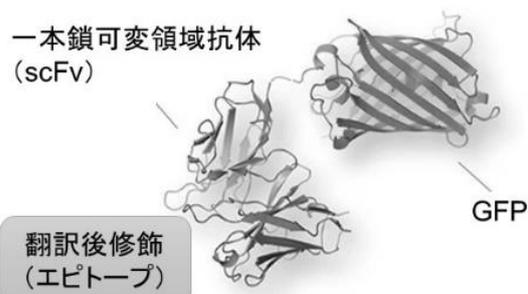


図2. 遺伝子コード型修飾特異的細胞内一本鎖抗体 Mintbody (Modification-specific intracellular antibody) を発現させることで、生細胞内で翻訳後修飾の局在を可視化できる (Sato et al., 2016より引用、改編)

本セミナーでは、Mintbody などを用いた生細胞解析によるクロマチンと転写の動態に関する最新の知見を紹介するとともに、創薬等に応用可能な細胞内抗体の開発に関する最新技術についても紹介する。

【参考文献】

1. 木村宏、佐藤優子. ゲノム、エピゲノムからヌクレオームへ：遺伝情報発現制御機構の包括的理解に向けて. 情報管理, 60, 555-563, 2017.
2. Sato Y et al. Live-cell imaging probes to track chromatin modification dynamics. *Microscopy*, 70, 415-422, 2021.
3. Kimura H. Histone modifications for human epigenome analysis. *J Hum Genet*, 58, 439-445, 2013.
4. Kimura H, Sato Y. Imaging transcription elongation dynamics by new technologies unveils the organization of initiation and elongation in transcription factories. *Curr Opin Cell Biol*, 74, 71-79, 2022.
5. Sato Y, et al. A Genetically Encoded Probe for Live-Cell Imaging of H4K20 Monomethylation. *J Mol Biol*, 428, 3885-3902, 2016.

6. Stasevich TJ, et al. Regulation of RNA polymerase II activation by histone acetylation in single living cells. *Nature*, 516, 272-275, 2014.
7. Sato Y, et al. Histone H3K27 acetylation precedes active transcription during zebrafish zygotic genome activation as revealed by live-cell analysis. *Development*, 146, dev179127, 2019.
8. Tjalsma SJD, et al. H4K20me1 and H3K27me3 are concurrently loaded onto the inactive X chromosome but dispensable for inducing gene silencing. *EMBO Rep*, 22, e51989, 2021.
9. Sato Y, et al. Visualizing histone H4K20me1 in knock-in mice expressing the mCherry-tagged modification-specific intracellular antibody. *Histochem Cell Biol*, 162, 41-52, 2024.
10. Uchino S, et al. Live imaging of transcription sites using an elongating RNA polymerase II-specific probe. *J Cell Biol*, 221, e202104134, 2022.
11. Ohishi H, et al. STREAMING-tag system reveals spatiotemporal relationships between transcriptional regulatory factors and transcriptional activity. *Nat Commun*, 13, 7672, 2022.

演題6

クロマチンが遺伝情報をコントロールする仕組み

東京大学 定量生命科学研究所 クロマチン構造機能研究分野 教授
胡桃坂 仁志 (くるみざか ひとし)

学歴・職歴

1989年3月 東京薬科大学薬学部衛生薬学科 卒業(薬剤師免許取得)
1991年3月 東京薬科大学大学院薬学研究科 博士前期課程 修了 薬学修士
1995年3月 埼玉大学大学院理工学研究科 博士後期課程 修了 博士(学術)
1995年4月 理化学研究所 奨励研究員
1995年6月 National Institutes of Health(アメリカ合衆国) 博士研究員
1997年6月 理化学研究所 研究員
2003年4月 早稲田大学理工学部 助教授 (2007年4月より准教授)
2008年4月 早稲田大学先進理工学部 教授 (2018年3月まで)
2018年4月 東京大学定量生命科学研究所 教授
(2021年4月より2022年3月まで総長補佐、
2023年4月より定量生命科学研究所副所長)

学位

1995年3月 博士(学術)、埼玉大学大学院理工学研究科 博士後期課程 修了

受賞歴

2018年6月 日本生化学会 倶進会 柿内三郎記念賞
2020年11月 持田記念医学薬学振興財団 持田記念学術賞
2021年4月 文部科学省 文部科学大臣表彰科学技術賞
2023年3月 上原記念生命科学財団 上原賞
論文賞
2016年7月 日本生化学会 JB論文賞(Takahashi D. et al.)
2018年6月 日本生化学会 JB論文賞(Kujirai T. et al.)
2018年6月 日本生化学会 JB論文賞(Kawaguchi T. et al.)
2020年2月 手島精一記念研究賞
2020年7月 日本生化学会 JB論文賞(Nishibuchi G. et al.)
2021年7月 日本生化学会 JB論文賞(Nishimura M. et al.)
2023年7月 日本生化学会 JB論文賞(Fukushima Y. et al.)

所属学会

2011年6月～現在 日本エピジェネティクス研究会 幹事
2016年9月～現在 日本生化学会 評議員

2018年1月～現在 日本生化学会 各種受賞等選考委員
2019年11月～現在 日本生化学会 常務理事
2017年1月～2020年12月 日本分子生物学会 理事
2019年1月～2020年12月 日本分子生物学会 キャリアパス委員長
2023年1月～現在 日本分子生物学会 理事
2023年1月～現在 日本分子生物学会 キャリアパス委員長
2019年6月～2021年6月 日本生物物理学会 代議員
2023年6月～現在 日本生物物理学会 代議員
2021年6月～現在 日本蛋白質科学会 代議員

公職・その他

2008年4月～2022年3月 横浜市立大学 客員教授
2013年4月～2017年3月 基礎生物学研究所 運営委員
2016年4月～2016年9月 京都大学 客員教授
2018年4月～現在 早稲田大学 名誉教授
2019年4月～現在 国立遺伝学研究所 運営会議委員
2019年10月～現在 ERATO「胡桃坂クロマチンアトラスプロジェクト」研究総括
2020年2月～現在 東京薬科大学 客員教授
2014年1月～現在 Oxford University Press 「The Journal of Biochemistry」、Associate Editor
2014年～現在 Nature Publishing Group 「Scientific Reports」、Editorial Board
2014年～現在 The Royal Society Publishing 「Open Biology」、Editorial Board
2020年1月～現在 Wiley Publishing 「Genes to Cells」、Associate Editor
2020年5月～現在 「The EMBO Journal」、Editorial Advisory Board
2023年10月～現在 「NAR Molecular Medicine」、Editorial Board

要 旨

DNA は生命情報を保持する担体である。この DNA に書き込まれた遺伝情報に基づいて、生物は RNA やタンパク質を生産し、生命活動を行っている。それぞれの生物を形成するために必要な情報を保持する DNA をゲノム DNA と呼ぶ。ヒトのゲノム DNA はおよそ 2 メートルで 30 億文字（塩基対）の長さであり、高次に折り畳まれてわずか直径数マイクロメートルの細胞核に収納されている。クロマチンは、ゲノム DNA をコンパクトに折りたたむ装置として機能しており、その基盤構造はヒストンタンパク質群からなるコアに約 150 塩基対の DNA が巻き付いた“ヌクレオソーム”である（図 1）。

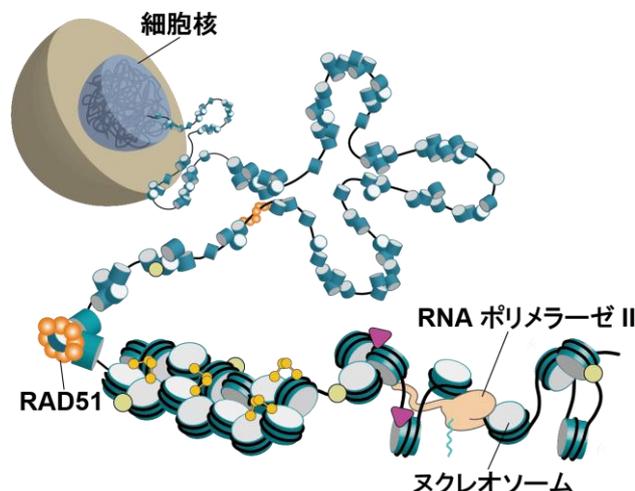


図 1 細胞核内クロマチンのイメージ図

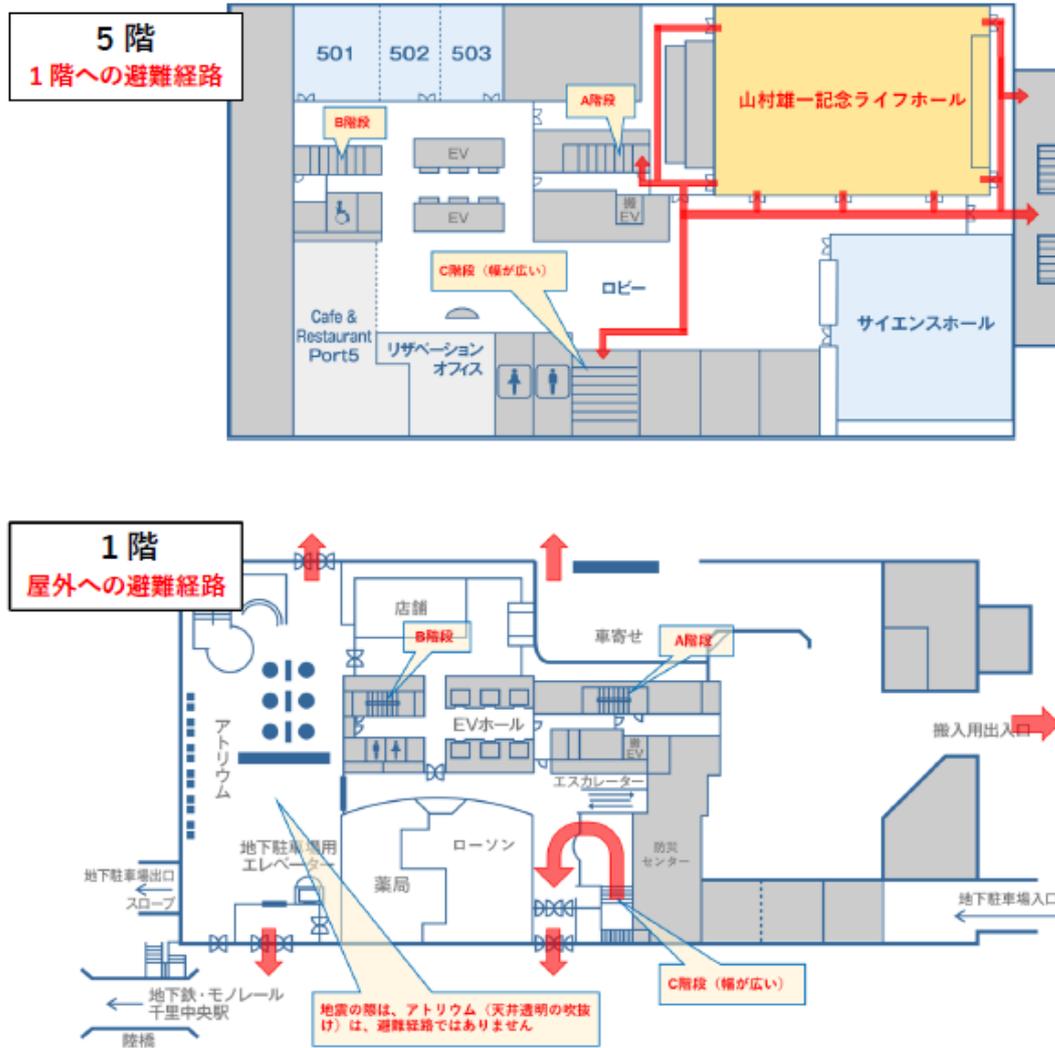
ヌクレオソームは、ゲノム DNA が読み取られたり、コピーされたり、修復されたりする際に、重要な役割を果たしていることが、近年の研究で明らかになってきた。このクロマチンのゲノム DNA のコントロール機能こそが、DNA 配列に依存しない遺伝子制御機構である“エピジェネティクス”の根幹であることが明らかになってきた。実際にクロマチンの異常が、がん、精神疾患、メタボリックシンドロームなどの原因となることが分かってきた。

我々はこれまでに、さまざまなヌクレオソームの構造 (1,2)、遺伝子の読み取りをオフにする特殊なクロマチンの構造 (3)、RNA ポリメラーゼ II によってヌクレオソームに巻き取られた DNA が読み取られる際のスナップショット構造群(4,5,7)、外来 DNA と自身の DNA を区別する自然免疫におけるヌクレオソームの役割(6)、ちぎれた DNA を修復する装置のヌクレオソーム上での働き(8)などを、試験管内での生化学反応と最新のクライオ電子顕微鏡解析を融合したビジュアル・バイオケミストリーによって解明してきた。今回、我々の最新の研究を紹介しつつ、クロマチンによるゲノム DNA の制御メカニズムについて紹介する。

【参考文献】

1. Tachiwana *et al.*, *Nature*, 476, 232-235, 2011.
2. Kato *et al.*, *Science*, 356, 205-208, 2017.
3. Machida *et al.*, *Mol Cell*, 69, 385-397, 2018.
4. Kujirai *et al.*, *Science*, 362, 595-598, 2018.
5. Ehara *et al.*, *Science*, 363, 744-747, 2019.
6. Kujirai *et al.*, *Science*, 370, 455-458, 2020.
7. Ehara *et al.*, *Science*, 377, eabp9466 (1169), 2022.
8. Shioi *et al.*, *Nature*, 628, 212-220, 2024

【防災対応について】



- 地震・火災等の非常時には、当ビルの“防災センター(1階)”と協力し、状況を確認の上、万一、避難が必要な場合はご案内いたします。お席を離れず、落ち着いて係員の指示をお待ちください。
- 避難の際には、エレベーター/エスカレーターは使用せず、階段をご使用ください。
- 当ビルは、建築基準法の新耐震基準に対応しています。

公益財団法人 千里ライフサイエンス振興財団
〒560-0082 大阪府豊中市新千里東町1-4-2
千里ライフサイエンスセンタービル20階
TEL : 06-6873-2006 FAX : 06-6873-2002
E-mail : sng-2023@senri-life.or.jp
URL : <https://www.senri-life.or.jp/>