

武田 洋幸

東京大学大学院理学系研究科  
教授

## DNA3 次元クロマチン動態の理解と予測

### § 1. 研究実施体制

#### (1) 武田グループ

- ① 研究代表者: 武田 洋幸 (東京大学大学院理学系研究科、教授)
- ② 研究項目
  - (1) whole brain の epigenetic code、発現情報の収集
  - (2) 3 次元構造と関連する LaminB、Cohesin の抗体の作製
  - (3) in situ Hi-C 法による Hd-rR/HNI ハイブリッド F1 の接触位置情報取得
  - (4) 接触頻度情報を基に推定した 3 次元構造の 3D FISH 法による検証
  - (5) トランスジェニック作製による近交系間塩基多型の epigenetic code への影響の検証
  - (6) 胚性遺伝子活性化過程における epigenetic code、接触位置情報の収集・解析

#### (2) 森下グループ

- ① 主たる共同研究者: 森下 真一 (東京大学大学院新領域創成科学研究科、教授)
- ② 研究項目
  - (1) 同一組織内の細胞間での 3 次元構造の揺らぎを分析多様な細胞系譜での 3 次元構造の変化を代数トポロジーの手法で解析
  - (2) DNA と接触する核内タンパク質複合体・転写因子の形状/サイズ/配置を推定し、多様な細胞系譜での変化が遺伝子発現に与える影響を分析
  - (3) 2 近交系の間での DNA 配列の差が生む 3 次元構造の違いを分析
  - (4) DNA 構造多型がクロマチン構造、遺伝子発現へ与える影響の解析 (増額分)

## § 2. 研究実施の概要

### I. クロマチン構造を予測する数理モデル（主に森下グループ）

- 細胞間で3次元構造が大きく異なり、細胞集団に共通する空洞（蛋白質複合体の塊）を検出しにくいことを認識し、1細胞情報の利用を検討した。
- エンハンサー、プロモーターの接触による転写制御を精度良く予測するために、CTCF および Cohesin が DNA を束ねてループ構造を形成するという extrusion model に基づくシミュレーション法の研究開発を進めた。

### II. 発生・再生過程における包括的エピゲノム情報、接触位置情報、遺伝子発現プロファイルの抽出（主に武田グループ）

- 未収集であったデータのうち whole brain のトランスクリプトームデータを stranded RNAseq により取得した。市販されている各種 Cohesin 抗体の中で、メダカでワークする Cohesin の抗体を特定し、それを用いて ChIP-seq を実施した。
- 脊椎動物におけるクロマチン高次構造の共通性、多様性を探るために、我々の取得したメダカ Hi-C データと、既に報告されているヒトおよびマウス Hi-C データを用いて高次構造の比較ゲノム解析を行なった。その結果、TAD のパターンはこれら種間で多様化しているものの、転写因子周辺について共通性が見出された。
- 相同染色体を区別した高次構造解析を行うために、Hd-rR/HNI ハイブリッド F1 から樹立した胚性 fibroblast および成体1個体由来の whole brain について in situ Hi-C を行うための良好なライブラリを得ることができた。
- 得られた Hi-C データの検証のために理化学研究所の古関研究室と共同研究し、3D-FISH 法をメダカ細胞に適用した。

### III. Epigenetic code の確立とクロマチン構造に寄与する DNA 領域(配列)の同定（武田グループおよび森下グループ）

- 1分子実時間シーケンシングによる DNA メチル化推定アルゴリズム AgIn 法を Pacific Biosciences 社と共同研究開発し、従来観測が困難だったセントロメア配列、トランスポゾン、相同染色体の DNA メチル化状態の観測に成功した。
- 近交系のゲノム配列を解読し、セントロメアの3次元構造を描出した。セントロメアが染色体の末端以外に存在する場合、種分化の過程でセントロメア配列の進化速度が有意に上昇することを見出した。
- メダカ近交系2種においてゲノム・エピゲノム比較を行い、2種のメダカの間には塩基配列と DNA メチル化パターンの両方に違いのある領域を同定した。これらの領域について、塩基配列の変異がメチル化パターンの違いに寄与するかどうかを検証するため、一方の系統のゲノム配列をもう一方の系統に導入したトランスジェニックメダカを作製した。その結果、意外なことに、どのような配列を導入しても外来配列はメチル化されず、DNA メチル化は塩基配列に必ずしも依存していないことが示唆された。

- **Epigenetic code**、およびクロマチン構造の確立メカニズムを明らかにするためにメダカ初期胚で起こる胚性ゲノム活性化過程においてクロマチン修飾および3次元の接触情報を収集した。その結果、体細胞で見られる階層的なクロマチンの3次元構造が胚性ゲノム活性化以前は存在せず、胚性ゲノム活性化と同時に確立されることが明らかになった。