

遺伝情報の「地図」づくりに挑む DNAの折りたたみ構造が手ごかり

胡桃坂 仁志 Kurumizaka Hitoshi

東京大学 定量生命科学研究所 教授
2019年よりERATO胡桃坂クロマチンアトラスプロジェクト研究統括



特集 1

OVERVIEW ■

遺伝情報の本体であるゲノムDNAは、たんぱく質が結合した「クロマチン」と呼ばれる分子複合体として細胞核内に収納されている。東京大学定量生命科学研究所の胡桃坂仁志教授はこのクロマチンに着目し、DNAの折りたたみ構造と遺伝子発現の相関を解明するとともに、それらの情報を地図のように記した「クロマチンアトラス」という新たな概念の確立を目指している。こうした生命の遺伝情報利用の根幹が明らかになれば、関連疾患の治療法確立にもつながると大きな期待が寄せられている。

発現制御のカギ握るクロマチン 臓器や組織を巧みに作り分ける

生物の遺伝情報である遺伝子は、アデニン(A)、チミン(T)、グアニン(G)、シトシン(C)という4種類の塩基の組み合わせでDNAの中に書き込まれており、生物を構築するために必要な最小単位の配列情報をゲノムという。ゲノムDNAは、ヒストンという樽^{たる}のような形のたんぱく質に巻きついて、ヌクレオソームを形成する。さらに、ヌクレオソームが鈴なり状に連なった高次構造がクロマチンだ(図1)。例えば、ヒトのDNAは長さ1.8メートルにもなるが、直径わずか5~10マイクロ(100万分の1)メートルほどの細胞核に収納されている。

「クロマチンという用語は1800年代後半に提案されたものですし、1997年には高分解能での構造が決定されているなど、案外歴史は古いのですが、役割は収納機能のみだと考えられていました。90年以降、それだけではないことが明らかになってきました」と話すのは、自身もちょうどその頃からクロマチン研究を開始したという、東京大学定量生命科学研究所の胡桃坂仁志教授だ。きっかけは90年代後半、がんや精神疾患などは遺伝子の変異で起こると考えられていた時に、遺伝子配列は変わらないのに、病気を発症する場合としない場合があることが明らかになったことだった。

調べてみると、ゲノムDNAにメチル基が結合することで遺伝子発現を抑制するメチル化のパターンが、異なっていたのだ。こうした遺伝子の配列によらない遺伝子発現を制御する仕組みは、

エピジェネティクスと命名され、クロマチンの構造はこのエピジェネティクスに参与していることがわかってきたのである。具体的には、ゲノムDNAが折りたたまれたクロマチン構造が壊れると、疾患や疾病につながる可能性が見いだされた。

また、生物は受精卵という1つの細胞が細胞分裂を繰り返すことによって分化し、機能の異なるさまざまな組織や臓器を形成する。それぞれの細胞は全て受精卵と同じゲノムDNAを持っているにも関わらず、目、皮膚、神経、骨などの臓器や組織を間違えることなく作り分けることができる。これもエピジェネティクスによるもので、細胞にはそれぞれの臓器を作るのに必要な遺伝情報のみをオンにして、その他の遺伝情報をオフにする仕組みが備わっていると考えられていた。

これに対し胡桃坂さんは、クロマチンの折りたたまれ方の違いによるのではないかと仮説を立てた。そして、実際にDNAがどのように細胞核内に収納されているのか、ゲノム

DNAの遺伝情報がどのように利用されているのかを明らかにするために、クロマチンを形成するヌクレオソームを試験管内で再構成する方法を確立し、ヌクレオソームの立体構造の研究を推進した(図2)。続いて、細胞のがん化や精子形成などにおいて、クロマチン構造の安定性と機能発現の関係性を明らかにし、クロマチン研究をリードし続けてきた。

要となるクライオ電顕を導入 枠組みを超えてグループ結集

こうした成果を基に、2019年、胡桃坂さんはERATO「胡桃坂クロマチンアトラスプロジェクト」を立ち上げた(図3)。目指すのは、細胞核の中のクロマチン構造を観察し、どこにどのような構造があり、それらがどのような機能を担うのかを解析することで、クロマチンの機能を制御する折りたたみ構造地図「クロマチンアトラス」を理解することだ。

目標達成の要と位置づけたのが、クライオ電子顕微鏡である。2017

図1 ゲノムDNAの収容階層構造

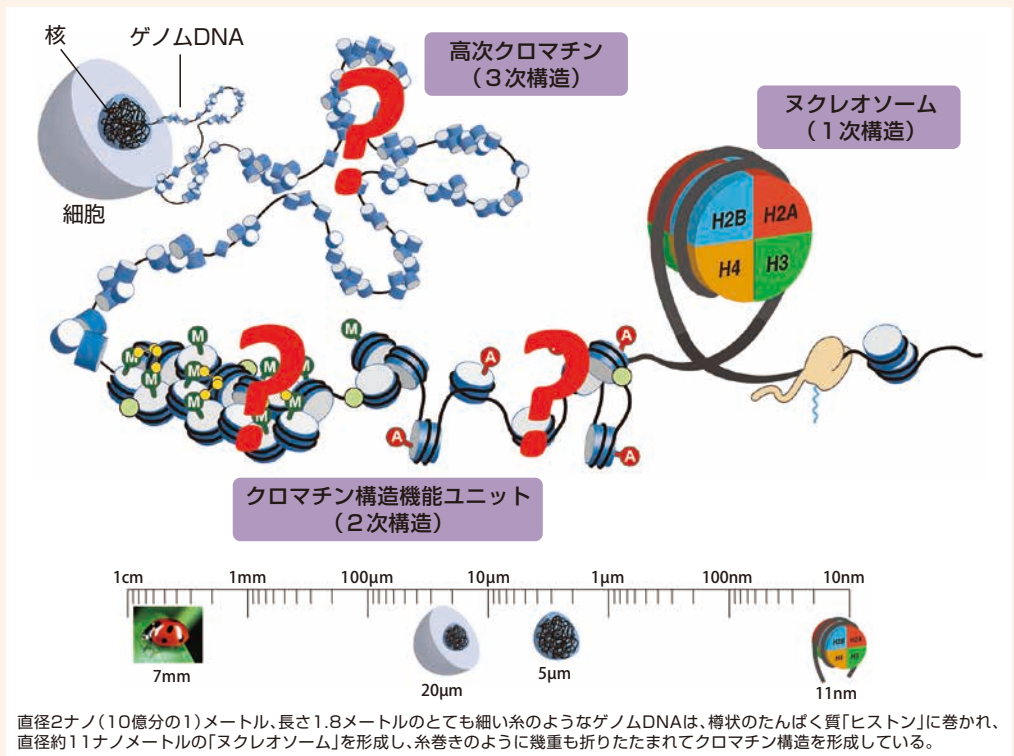
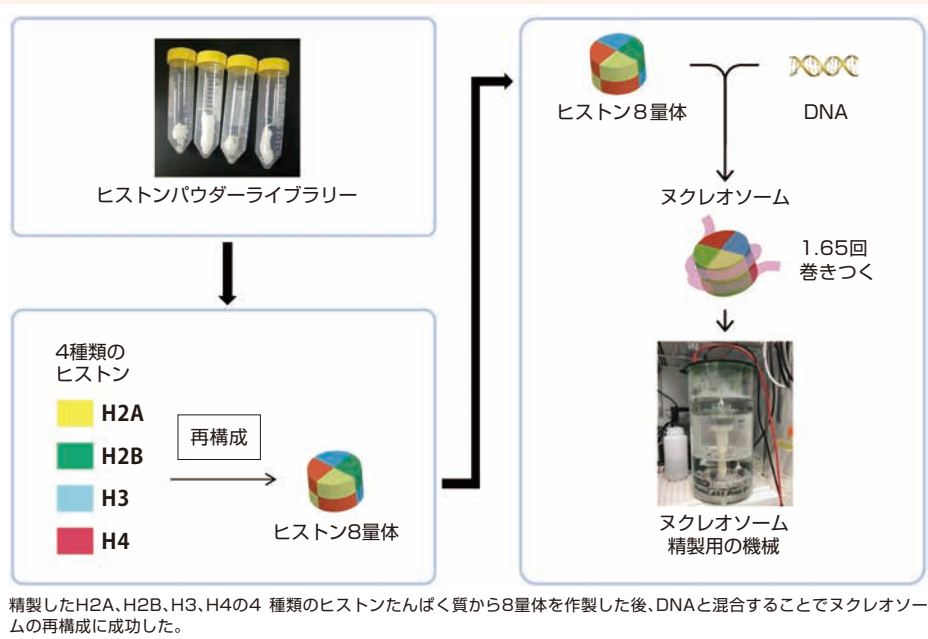


図2 スクレオソーム再構成技術の概要



る。同時に、まだ確立していない、クライオ電子顕微鏡や蛍光顕微鏡でのクロマチン解析技術の開発を、東京大学大学院医学系研究科の吉川雅英教授、東京工業大学理学院の藤芳暁助教らとともに進めている。

有機合成化学研究開発グループは、有機合成技術を利用して、クライオ電子顕微鏡で用いる特定成分分取クライオEM (SCoPE) 法と呼ばれる新しいサンプル調製法の開発を目指している。また、表現型解析研究グループは、細胞分化の過程でクロマチン構造がどのように変化するかを可視化することを目的に、クライオ電子顕微鏡分析に適した生体試料を提供している。具体的には、哺乳類の細胞の中でも、分化成熟の過程でクロマチン構造が最も変容する精子細胞に着目して研究を推進している。

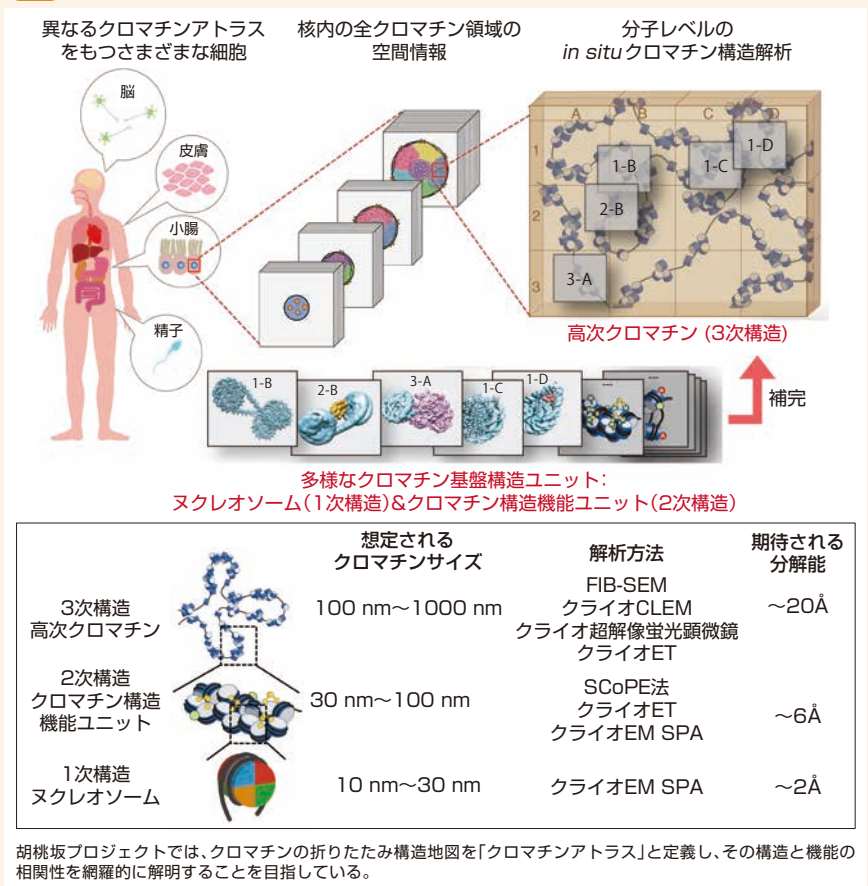
年ノーベル化学賞でも話題となった装置で、従来の核磁気共鳴 (NMR) 法やX線結晶構造解析では解析困難だったたんぱく質などの分子構造を原子レベルで把握できる (図4)。世界各国では導入が進んでいたが、胡桃坂さんがクロマチンの研究を始めた当時、日本にはわずかな台数しかなく、他機関の装置を利用して研究を続けていたという。「長年クライオ電顕の重要性を訴えてきましたから、ERATOで導入が決まったときはうれしかったですね」と当時を振り返る (図5)。

プロジェクトは、胡桃坂さんがリーダーを務めるクロマチン構造研究グループと、早稲田大学理工学術院先進理工学部の山口潤一郎教授が率いる有機合成化学研究開発グループ、東京大学定量生命科学研究所の岡田由紀教授がリーダーを務める表現型解析研究グループで構成される (図6)。いずれも胡桃坂さんが自ら候補者を選定し、直接コンタクトした。「ベストな布陣になりましたが、既存のクロマチン研究の枠組みにこだわらず依頼しましたので、かなり驚かれることもありました」と胡桃坂さんは笑う。

クロマチン構造研究グループで

は、クライオ電子顕微鏡を使ってクロマチンの基本構造を原子レベルで解析することにより、遺伝子発現制御の仕組みの階層的な解明を目指してい

図3 プロジェクトの概要



胡桃坂プロジェクトでは、クロマチンの折りたたみ構造地図を「クロマチンアトラス」と定義し、その構造と機能の相関性を網羅的に解明することを目指している。

図4 クライオ電子顕微鏡解析のためのサンプル調製と実際の撮影画像解析

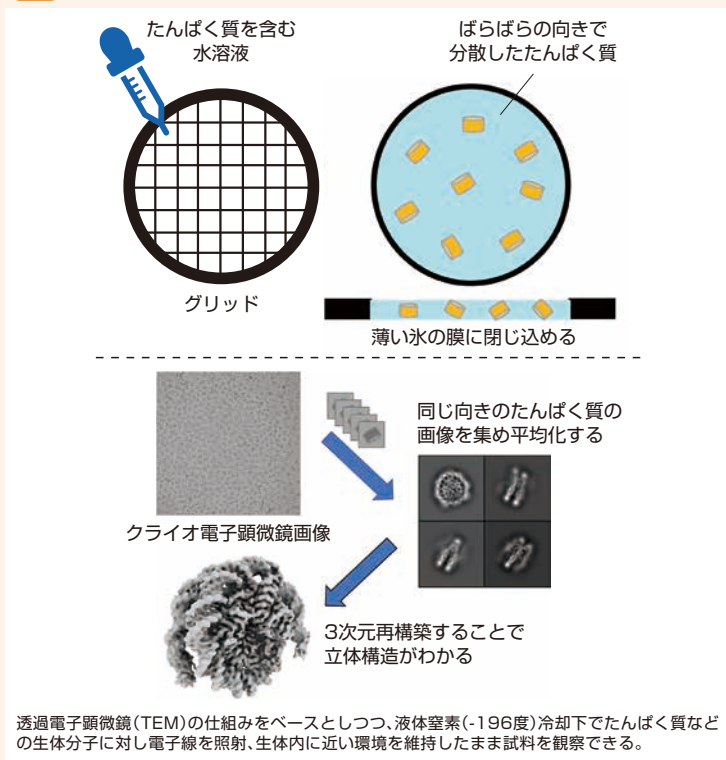


図5 クライオ電子顕微鏡の外観



RNA転写の工程解析で発見 ヌクレオソームの巻き直し

プロジェクトではすでにいくつもの大きな成果が出ているが、その1つがRNA転写の仕組み解明だ。細胞では、クロマチン上をRNAポリメラーゼが転写していくことはわかっていたが、その仕組みは長年の謎とされていた。そこで胡桃坂さんは、精製したRNAポリメラーゼIIを試験管中で反応させることで、RNAポリメラーゼIIがクロマチンによって折りたたまれたDNAを転写する転写反応過程の様子を、クライオ電子顕微鏡を用いて可視化した。

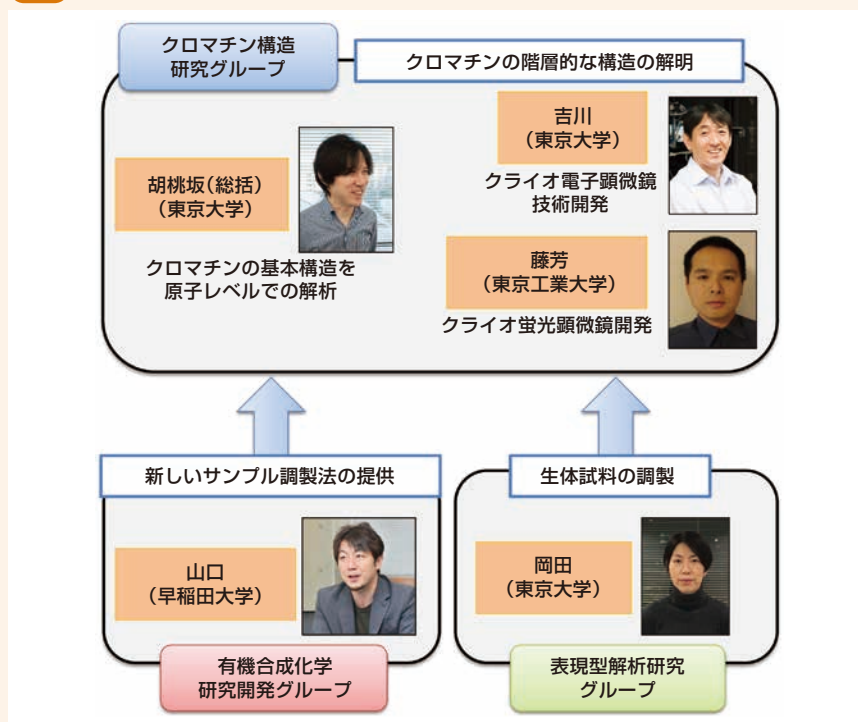
染色体の中では、リンカーヒストンH1がヌクレオソームに結合し、クロマトソームを形成することによって、より高次に折りたたまれている。そこで、胡桃坂さんはクロマトソームを転写している最中のRNAポリメラーゼIIの立体構造を明らかにした(図7)。さらに、胡桃坂さんは、ヌクレオソームの中でヒストンに巻き取られたDNAが読み取られる仕組みを

18年に解明し、22年にはその詳細な過程を電子顕微鏡で捉えることに成功した。

具体的には、RNAポリメラーゼIIがヌクレオソームDNAを段階的に

ヒストンから引き剥がしながら、転写伸長反応を行うことを見いだした。さらにRNAポリメラーゼIIが、転写伸長反応の途中でヌクレオソームの末端付近および中心付近で一瞬

図6 プロジェクトの運営体制図

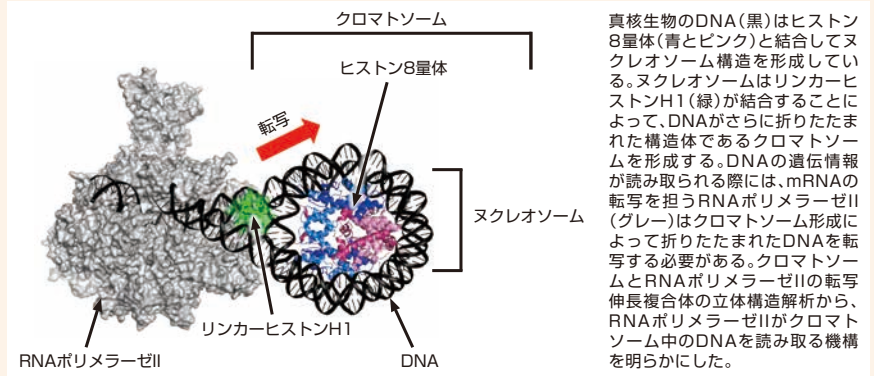


停止することもわかった。さらには、RNAポリメラーゼIIがヌクレオソームDNAをヒストンから引き剥がした後、再びヌクレオソームを組み立て直す仕組みも明らかにした(図8)。

ヌクレオソームDNAはRNAポリメラーゼIIの転写により、ヒストンから引き剥がされ、転写がヌクレオソームの中央に近づくにつれて、一時停止して、DNAから剥がれたヒストンにたんぱく質のFACTが結合する。FACTに保護されたヒストンはDNAから分離するが、出入り口付近で再結合して、ヌクレオソームの巻き直しが始まるという。結果として、RNAポリメラーゼIIがヌクレオソームを通過する際には、ヒストンの下流から上流への受け渡しが起こり、RNAポリメラーゼIIは何事もなかったように、ヌクレオソームを通過し、転写を継続できる。

一連の発見で重要なのは、クロマチン構造がヒストンを再利用することで、ヒストン修飾などのエピジェネティック情報を維持しつつ転写が行われる仕組みを明らかにしたことだ。「剥がされたヒストンをRNAポリメラーゼIIが受け取る部位は、共同研究者である理化学研究所の関根俊一チームリーダーの提案により、揺りかごを意味するクレードルと命名しました」と胡桃坂さんは語る。

図7 転写伸長因子複合体の構造



真核生物のDNA(黒)はヒストン8量体(青とピンク)と結合してヌクレオソーム構造を形成している。ヌクレオソームはリンカーヒストンH1(緑)が結合することによって、DNAがさらに折りたたまれた構造体であるクロマトソームを形成する。DNAの遺伝情報が読み取られる際には、mRNAの転写を担うRNAポリメラーゼII(グレー)はクロマトソーム形成によって折りたたまれたDNAを転写する必要がある。クロマトソームとRNAポリメラーゼIIの転写伸長複合体の立体構造解析から、RNAポリメラーゼIIがクロマトソーム中のDNAを読み取る機構を明らかにした。

出典:Hirano R. et al. *Nature Communications* 2022

実態解明は始まったばかり 若手研究者育成も重要な使命

順調に研究が進んでいるようにも見えるが「クロマチンアトラスの実態解明はまだ始まったばかりです」と胡桃坂さんは語る。1つの細胞の全クロマチンアトラスが明らかになったとしても、その周辺の細胞、全組織のクロマチンアトラスへと広がり、組織と組織間のコミュニケーションも解明しなければならず、やるべきことはまだまだたくさんあるという。

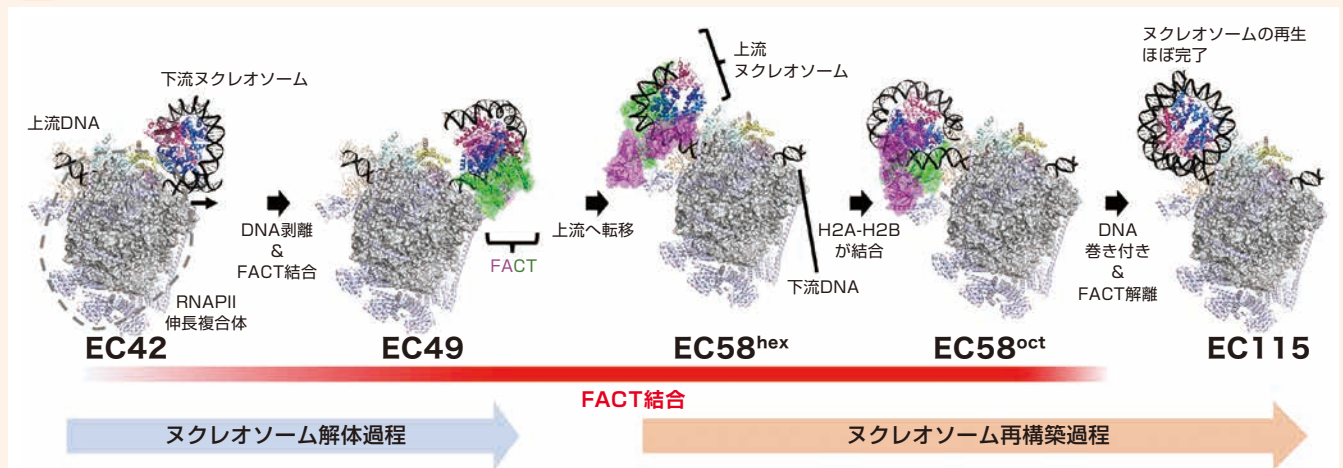
改めてプロジェクトの到達目標を尋ねると「少なくとも自分の在任中に細胞内のクロマチンアトラスの一部を解明することを目標に掲げており、そのための技術開発は順調に進んでいます」と自信をのぞかせる。さ

らに、その先を引き継ぐ若い研究者の育成も、重要な使命だと意気込む。「今、研究をしている自分を含めた先輩研究者が、希望を持って楽しく研究をしている姿を後輩に見せることが大切です」。

クロマチンアトラス研究のいくつかの成果は、世界各国で使われている分子生物学の教科書の最新版に掲載された。研究室のこうした成果も、若い研究者にとっては励みとなるだろう。「将来、クロマチンアトラスの実態が解明されれば、生命の遺伝情報利用の根幹に迫るとともに、関連疾患においてこれまでにない新たな治療法の確立に大きく貢献できるでしょう」。遺伝子機能の解明のカギとなるクロマチン研究への挑戦は、これからも続いていく。

(TEXT:伊藤左知子, PHOTO:石原秀樹)

図8 RNAポリメラーゼIIのDNA転写とヌクレオソーム構造の再形成



転写伸長複合体がヌクレオソームを通過していく際のスナップショットを順番に並べたもので、クライオ電子顕微鏡解析で実験的に得られた構造。RNAポリメラーゼIIがDNAの転写伸長中に下流のヌクレオソームをいったん解体し、上流で再生させる様子が確認された。

出典: Ehara H., Kujirai T. et al. *Science* 2022