

自己評価報告書

平成23年 4月 8日現在

機関番号：32689

研究種目：新学術領域研究（研究領域提案型）

研究期間：2008～2012

課題番号：20114003

研究課題名（和文） 遺伝情報収納のダイナミクス

研究課題名（英文） Dynamics of the genome compaction in a nucleus

研究代表者

大山 隆 (OHYAMA TAKASHI)

早稲田大学・教育・総合科学学術院・教授

研究者番号：60268513

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：生物科学・分子生物学

キーワード：ゲノム、染色体、細胞核、クロマチン、DNA 物性、DNA 高次構造、遺伝子発現、自己集合

1. 研究計画の概要

本研究では、以下の目標を掲げた。

(1) DNAの物理的性質を糸口にしてクロマチン・染色体の構築機構にメスをいれる。(2) 生細胞蛍光イメージングの手法を用いて、DNA物性特異領域の核内（または染色体内）空間配置を可視化し、細胞周期および細胞分化に伴うゲノム折り畳みのダイナミクスを明らかにする。(3) 酵母、線虫、ショウジョウバエ、メダカ、マウス、チンパンジーなどのゲノムに関しても機械的特性の解析を行うと共に、一部についてはゲノム折り畳みのダイナミクスを解析する。そして、これらの各研究成果を総合的に分析して、真核生物に共通したゲノム収納の分子基盤を解明する。

2. 研究の進捗状況

(1) DNAの物理的性質とクロマチン・染色体の構築機構：①DNAの物理的性質と核の大きさによって間期染色体の基本的な構造が決まることをほぼ明らかにした。具体的には、DNAの物理的性質によりヌクレオソームの配置とリンカーDNAの拡がりが決まり、核の大きさによりリンカーDNAの拡がりの方向が決まることを解明した。また、この原理を用いて、出芽酵母の全染色体（16本）の間期核内構造を、10 nmクロマチン繊維の折りたたみが識別できる分解能でモデル化した。さらに、全染色体が核内で共存している様子もモデル化した。なお、得られたモデルは2点間の空間距離に関して、これまでに報告されている全ての実験データとほぼ完全に一致し、その正確

さが証明された。②ヌクレオソームに自己集合能があることが明らかになった。これまでに同じ塩基配列をもつDNA同士が選択的に相互作用すること（DNAが自己集合すること）を解明していたが、今回、DNAがヌクレオソームを形成していても選択的相互作用が起きることが解明された。なおこの現象には、DNAの自己集合現象の場合と同様、生理的濃度のマグネシウムイオンの存在が必須であることが明らかになった。(2) DNA物性特異領域の核内（または染色体内）空間配置の可視化とゲノム折り畳みのダイナミクス：我々は、ヒトゲノムには異常に柔軟な領域が比較的規則正しく存在していることを見出し、このような領域をSPIKEと命名して解析を行ってきた。現在、ヒト21番染色体に存在するSPIKEを解析対象として*lacO/LacI-GFP*システムを用いた研究を進めているが、現状ではまだ、このシステムが上手く機能していない。(3) 各種真核生物ゲノムの機械的特性の解析：メダカ以外の生物については、ゲノムの機械的特性の解析が完了した。また、シロイヌナズナについても解析を行った。現在、生物種を超えたSPIKEの新たな特徴が明らかになりつつある。

3. 現在までの達成度

(1) DNAの物理的性質とクロマチン・染色体の構築機構

①当初の計画以上に進展している。

(理由) 出芽酵母を用いた解析でゲノム折り畳みの基本原理をほぼ解明できたため。

(2) DNA物性特異領域の核内(または染色体内)空間配置の可視化とゲノム折り畳みのダイナミクス

③やや遅れている。

(理由) *lacO/LacI-GFP*システムを用いる解析を進めているが、蛍光強度が不十分でダイナミクスを解析できる段階に至っていない。これまでに導入した *lacO* リピートの反復回数が少ないためではないかと推察している。

(3) 各種真核生物ゲノムの機械的特性の解析
①当初の計画以上に進展している。

(理由) 独自に開発した、ゲノムの機械的特性解析用コンピュータプログラムが期待以上に機能的であったため。

4. 今後の研究の推進方策

(1) DNAの物理的性質とクロマチン・染色体の構築機構

これまでと同様の手法を用いて、ヒトのクロマチン・間期染色体のモデルを構築する。また、染色体テリトリーを決める要因とその作用機構についても解析を進める。ヌクレオソームの自己集合現象については、メチル化DNA上にヌクレオソームを再構成してメチル化が選択的相互作用にどのような影響を及ぼすかを調べる。

(2) DNA物性特異領域の核内(または染色体内)空間配置の可視化とゲノム折り畳みのダイナミクス

*lacO*配列の反復回数を増やすことで *lacO/LacI-GFP*システムを改善し、これを用いて今後もヒト21番染色体の動態解析を行う。一方で、同染色体の全SPIKE(11箇所)を対象として、FISHを用いたSPIKEの核内局在の解析を進める。なお後者については、予備的な結果はすでに得られている。そこで今後は、データの確実性について検証を進める。

(3) 各種真核生物ゲノムの機械的特性の解析
2. で述べたように、現在、生物種を超えたSPIKEの新たな特徴が明らかになりつつある。そこで、この解析を継続して推進すると共に、他の真核生物についても機械的特性の解析を行う。

5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計7件)

① Tanase, J., Mitani, T., Udagawa, K., Nishikawa, J. and Ohyama, T. Competence of an artificial bent DNA as a transcriptional activator in mouse ES cells. *Mol. Biol. Rep.* 38, 37-47 (2011) 査読有り

② Tanase, J., Morohashi, N., Fujita, M., Nishikawa, J., Shimizu, M. and Ohyama, T. Highly efficient chromatin transcription induced by superhelically curved DNA segments: the underlying mechanism revealed by a yeast system. *Biochemistry* 49, 2351-2358 (2010) 査読有り

③ Kamiya, H., Fukunaga, S., Ohyama, T. and Harashima, H. Effects of carriers on transgene expression from plasmids containing a DNA sequence with high histone affinity. *Int. J. Pharm.* 376, 99-103 (2009) 査読有り

④ Kitayama, K., Kamo, M., Oma, Y., Matsuda, R., Uchida, T., Ikura, T., Tashiro, S., Ohyama, T., Winsor, B. and Harata, M. The human actin-related protein hArap5: nucleocytoplasmic shuttling and involvement in DNA repair. *Exp. Cell Res.* 315, 206-217 (2009) 査読有り

⑤ 大山隆, 木村元, 下岡保俊: ゲノムDNAはいかにして折り畳まれるか—DNA物性とゲノム収納—. *実験医学増刊号「細胞核—遺伝情報制御と疾患」* 27, 35-42 (2009) 査読無し

[学会発表] (計66件)

① Ohyama, T., 他8名, Structure of yeast interphase chromosomes and the genome folding principle. International Symposium on the Physicochemical Field for Genetic Activities, Jan. 24, 2011 (Awaji)

② Kimura H., 中4名, Ohyama, T. Three-dimensional architecture of chromatin fibers in the interphase nucleus. The American Society for Cell Biology 50th Annual Meeting, Dec. 13, 2010 (Philadelphia)

③ Ohyama, T., 他6名, How genomic DNA is functionally folded in a nucleus. The Wilhelm Bernhard Workshop 21st International Workshop on the Cell Nucleus, Sept. 1st, 2009 (Ustron, Poland)

④ Ohyama, T., 他6名, How genomic DNA is functionally folded in a nucleus. 18th Lake Shirakaba Conference, Jun. 20, 2009 (Copenhagen)

⑤ Ohyama, T., 他3名, The DNA flexibility maps of eukaryotic genomes. 8th EMBL Transcription Meeting, Aug. 23, 2008 (Heidelberg)

[図書] (計1件)

① 大山隆監修 西川一八・清水光弘共編 オーム社「ベーシックマスター 生化学」2008, 427頁