

令和 4 年 6 月 1 日現在

機関番号：82401

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K16049

研究課題名(和文) H3K9me2ドメインの形成基盤と高次クロマチン構造形成における役割の解明

研究課題名(英文) Regulation of H3K9me2 domain formation and higher order chromatin organization

研究代表者

福田 溪 (Fukuda, Kei)

国立研究開発法人理化学研究所・開拓研究本部・研究員

研究者番号：00756786

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：転写不活性なゲノム領域であるヘテロクロマチンは主にH3K9メチル化により修飾されており、その異常はがん、不妊、精神疾患など様々な病気との関連が報告されている。本研究ではH3K9メチル化の制御機構を調べるため、哺乳類に5種類あるH3K9メチル化酵素をそれぞれ欠損させたマウス胚性幹細胞におけるH3K9メチル化状態、遺伝子発現、核内高次構造を解析した。その結果、H3K9メチル化は核内の区画により異なるセットのH3K9メチル化酵素で制御されること、H3K9メチル化の欠乏はヘテロクロマチンの空間配置を変化させることがわかり、H3K9メチル化と核内高次構造は互いに制御し合うことが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

転写不活性なゲノム領域であるヘテロクロマチンは主にH3K9メチル化により修飾されており、その異常はがん、不妊、精神疾患など様々な病気との関連が報告されている。本研究により、核内の空間配置によりH3K9メチル化が制御される機構が異なることがはじめて明らかになった。この研究成果はH3K9メチル化異常により生じる疾患の形成機序の理解につながると期待される。

研究成果の概要(英文)：Heterochromatin, which is a transcriptionally inactive genomic region, is mainly modified by H3K9 methylation, and its abnormalities have been reported to be associated with various diseases such as cancer, infertility, and psychiatric disorders. In this study, in order to investigate the regulatory mechanism of H3K9 methylation, we analyzed the H3K9 methylation state, gene expression, and nuclear higher-order structure in mouse embryonic stem cells lacking each of the five types of H3K9 methylase in mammals. The results show that H3K9 methylation is regulated by different sets of H3K9 methylating enzymes depending on the intranuclear compartment, and that deficiency of H3K9 methylation alters the spatial arrangement of heterochromatin. Thus, we revealed that the regulation of H3K9 methylation and higher order chromatin organization have mutual relationship.

研究分野：ゲノム制御

キーワード：ヘテロクロマチン H3K9メチル化 高次クロマチン構造

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

真核生物のゲノムは2メートルにもなり、それが階層的に折りたたまれることで、細胞核に収納されている。長大なゲノムから必要な情報のみをいかに取り出すのかは、未だに生物学の重要な問いの一つである。近年のシーケンス解析技術の進歩により、ゲノムが遺伝子の活性の高い A compartment と、活性の低い B compartment という Mb 単位の高次クロマチン構造を形成することが明らかになった (Rao et al., Cell, 2014)。高次クロマチン構造の形成はゲノムの核内への収納や遺伝子発現制御に重要であるにも関わらず、その形成機構は十分に理解されていない。

所属研究室では世界に先駆けて、抑制性クロマチン修飾の H3K9me2 のメチル化酵素として G9a を同定し (Tachibana et al., JBC 2001; Gene Dev., 2002)、現在まで H3K9me2 の研究を行ってきた。H3K9me2 は B compartment の特徴である反復配列の多いゲノム領域に Mb 単位のドメインとして存在し、染色体の核内配置を制御するため、H3K9me2 ドメインにより A/B compartment の形成が制御されている可能性がある。しかし、H3K9me2 ドメインの形成機構と、高次クロマチン構造の形成における H3K9me2 ドメインの役割は不明であった。

2. 研究の目的

ゲノムは A/B compartment と呼ばれる Mb 単位の高次クロマチン構造を形成し、活性領域と不活性領域に大別されているが、A/B compartment の形成機構は十分に理解されていない。本研究では抑制性のクロマチンドメインを形成する H3K9me2 に焦点を当て、(1)H3K9me2 がドメインを形成する分子基盤の解明、(2)高次クロマチン構造形成における H3K9me2 ドメインの役割の解明の2つのポイントについて研究を進めた。

3. 研究の方法

哺乳類には5種類の H3K9 メチル化酵素 (SETDB1, SUV39H1, SUV39H2, EHMT1, EHMT2) が知られている。これらの酵素をそれぞれ、あるいは複数欠損したマウス ES 細胞および不死化タジ由来線維芽細胞 (iMEF) を作成し、H3K9 メチル化、遺伝子発現、高次クロマチン構造をそれぞれ ChIP-seq、RNA-seq、Hi-C にて解析した。

4. 研究成果

野生型 ES 細胞と iMEF における H3K9me2 の ChIP-seq の結果、意外なことに Mb レベルの H3K9me2 ドメインは B compartment だけでなく、A compartment の一部にも生じることが生じることが明らかとなった。変異体における H3K9me2 ChIP-seq の結果、ES 細胞において H3K9me2 ドメインの形成には A/B compartment とともに *Ehmt1/Ehmt2* が必須であるのに対し、iMEF では *Ehmt1/Ehmt2* は A compartment の H3K9me2 ドメインの形成に必須であった。また、*Ehmt1/Ehmt2* を不活化しても残存する H3K9me2 のうち、A compartment に局在するものは SETDB1 によって媒介される一方、B compartment では SETDB1/SUV39H1/SUV39H2 が冗長的に働き媒介されていた。さらに、セントロメア近傍の H3K9me2 は SUV39H1/SUV39H2 に媒介されていた。したがって、細胞種、ゲノム上の位置、核内配置によって H3K9me2 ドメインの形成機構は異なり、本研究により複雑な H3K9 メチル化機構の一端が明らかとなった。

さらに、各 H3K9 メチル化酵素各酵素の欠損 ES 細胞における Hi-C 解析から、H3K9me2 の低下と関連し、ヘテロクロマチンの核内配置に変化が見られ、本研究により高次クロマチン構造

と H3K9 メチル化の制御は互いに密接に関連し制御し合うことが明らかとなった。この結果を Communications Biology 誌に報告した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Kei Fukuda	4. 巻 -
2. 論文標題 Regulation of mammalian 3D genome organization and histone H3K9 dimethylation by H3K9 methyltransferases	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Communications Biology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s42003-021-02089-y	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Ohishi Hiroaki, Au Yeung Wan Kin, Unoki Motoko, Ichiyangi Kenji, Fukuda Kei, Maenohara Shoji, Shirane Kenjiro, Chiba Hatsune, Sado Takashi, Sasaki Hiroyuki	4. 巻 25
2. 論文標題 Characterization of genetic origin dependent monoallelic expression in mouse embryonic stem cells	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Genes to Cells	6. 最初と最後の頁 54～64
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/gtc.12736	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 （ローマ字氏名） （研究者番号）	所属研究機関・部局・職 （機関番号）	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------