

令和 5 年 4 月 28 日現在

機関番号：72602

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K06496

研究課題名(和文) 転写活性型クロマチン構造を形成するH2A.Zの機能解析

研究課題名(英文) Analysis of H2A.Z forming transcriptionally active chromatin structures

研究代表者

立和名 博昭 (Tachiwana, Hiroaki)

公益財団法人がん研究会・がん研究所 がん生物部・研究員

研究者番号：70546382

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究ではクロマチンの凝集度とヒストンの取り込みに相関があることが分かった。転写が行われている凝集度の低いクロマチンでは、ヒストンの取り込みがDNA複製非依存的に起きるが、転写が抑制されている凝集度の高いクロマチンではDNA複製に共役したメカニズムでしかヒストンの取り込みが起こらないことが明らかとなった。このことによりヒストンバリエーション毎に異なるゲノムDNA上への局在が、クロマチン構造により制御されている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

本研究はエピジェネティクス研究の重要な課題であるクロマチン構造による転写制御機構の解明をおこなった。本研究により、クロマチン構造による転写制御機構が明らかになり、遺伝子発現プロファイルが変化する生命現象(発生、分化、細胞のがん化、外部刺激への応答など)の理解につながることを期待される。

研究成果の概要(英文)：In this study, we found a correlation between chromatin structure and histone incorporation. In the case of transcriptionally repressed, highly condensed chromatin, histone incorporation occurs only by a mechanism coupled to DNA replication. While in the case of transcriptionally active, less condensed chromatin, histone incorporation occurs in a DNA replication-independent manner. This indicates that the localization of each histone variant on genomic DNA is regulated by chromatin structure.

研究分野：エピジェネティクス

キーワード：ヒストンバリエーションt クロマチン

1. 研究開始当初の背景

真核生物のゲノム DNA はクロマチン構造を形成し、細胞の核内に収納されている。クロマチン構造の基本単位であるヌクレオソームの構成因子であるヒストンには亜種(バリエーション)が存在する。各バリエーションはヒストン化学修飾と同様に特異的な機能を持っている。H2A.Z はヒストン H2A のバリエーションであり、転写が行われている転写開始点近傍のクロマチンに特異的に存在し、転写の活性化に機能している。さらに、クロマチン中の H2A.Z は転写不活性型のクロマチン構造の形成を抑制することがゼブラフィッシュの初期胚やヒトの体細胞を用いた実験で示されている。これらのことから、H2A.Z は転写が活発なクロマチンの形成および維持に機能していることが分かるが、その分子機構は明らかとなっていない。本研究では、どのようにして H2A.Z が転写開始点近傍に集積し、転写活性型クロマチンの形成および維持に機能するのか、その分子機構を明らかにする。本研究はエピジェネティクス研究の重要な課題であるクロマチン構造による転写制御機構の解明につながり、遺伝子発現プロファイルが変化する発生、分化もしくは細胞のがん化などの理解につながることを期待される。

2. 研究の目的

本研究の目的は、転写開始点近傍のクロマチンがどのように形成され維持されているのかを、(i) H2A.Z が転写開始点近傍のクロマチンに集積する機構、(ii) クロマチンに取り込まれた H2A.Z がヘテロクロマチン化を抑制し、ユークロマチン形成を促進する機構の解析から明らかにすることである。

3. 研究の方法

本研究では独自に確立した透過性細胞と試験管内再構成したヒストン複合体を用いて、エピゲノム情報を保持したクロマチンにヒストン複合体を取り込ませる実験系である RhIP assay (Reconstituted histone complex Incorporation into chromatin of Permeabilized cell) を用いる。透過性細胞は、細胞を固定せずに界面活性剤で処理した細胞である。この処理により、細胞膜と核膜に孔があくため外から加えたヒストン複合体を透過性細胞のクロマチンと反応させることができる。加えるヒストン複合体は、大腸菌を用いてリコンビナントタンパク質として調製し、エピトープタグを付加しておくことで、内在性のヒストンと区別することが可能である。これまでに、試験管内再構成した H2A.Z-H2B 複合体を細胞抽出液と共に透過性細胞に加え、RhIP assay と ChIP-seq を組み合わせた RhIP-ChIP-seq により、取り込まれた領域の解析を行った。その結果、加えた H2A.Z-H2B 複合体は転写開始点近傍のクロマチンに取り込まれていることが分かり、本実験系は H2A.Z の機能解析に有効であることが確認された(図 1)。本研究では、この RhIP assay を用いて、H2A.Z の転写開始点近傍へのクロマチンの取り込み機構の解析をおこなった。

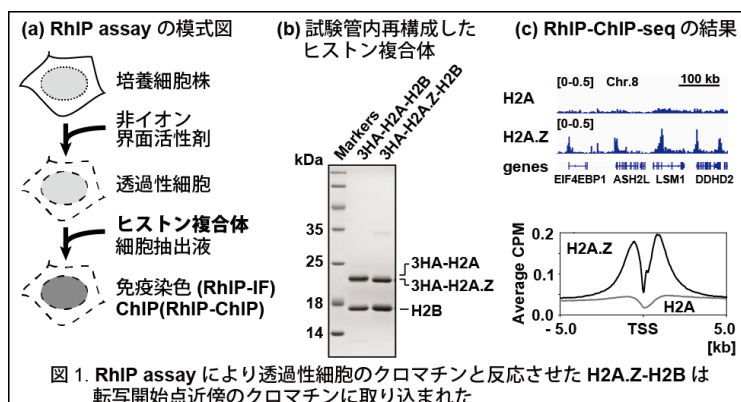


図 1. RhIP assay により透過性細胞のクロマチンと反応させた H2A.Z-H2B は転写開始点近傍のクロマチンに取り込まれた

4 . 研究成果

本研究では透過性細胞と試験管内再構成した H2A.Z-H2B 複合体を用いて、H2A.Z のクロマチンへの取り込み機構および転写活性化機構を解析した。その結果、クロマチンの凝集度とヒストンの取り込みに相関があることが分かった。転写が行われている凝集度の低いクロマチンでは、ヒストンの取り込みが DNA 複製非依存的に起きるが、転写が抑制されている凝集度の高いクロマチンでは DNA 複製に共役したメカニズムでしかヒストンの取り込みが起こらないことが明らかとなった。さらに、H2A.Z は DNA 複製依存的にクロマチンに取り込まれないため、転写が活性化した凝集度の低いクロマチンに取り込まれることが分かった。また、H2A.Z が転写開始点近傍のクロマチンに特異的に取り込まれるために必要な H2A.Z の領域のマッピングを行い、クロマチンに取り込まれる前の H2A.Z に結合し、H2A.Z のクロマチンへの取り込みに必要な複合体の解析も行った。本研究成果は、eLife 誌にて 2021 年に発表した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Tachiwana Hiroaki, Dacher Mariko, Maehara Kazumitsu, Harada Akihito, Seto Yosuke, Katayama Ryohei, Ohkawa Yasuyuki, Kimura Hiroshi, Kurumizaka Hitoshi, Saitoh Noriko	4. 巻 10
2. 論文標題 Chromatin structure-dependent histone incorporation revealed by a genome-wide deposition assay	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 eLife	6. 最初と最後の頁 e66290
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.7554/eLife.66290	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 Tachiwana Hiroaki, Saitoh Noriko	4. 巻 28
2. 論文標題 Nuclear Long Non-Coding RNAs as Epigenetic Regulators in Cancer	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Current Medicinal Chemistry	6. 最初と最後の頁 5098 ~ 5109
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2174/0929867328666210215114506	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Tachiwana H, Dacher M, Maehara K, Harada A, Seto Y, Katayama R, Ohkawa Y, Kimura H, Kurumizaka H, Saitoh N.	4. 巻 in press
2. 論文標題 Chromatin structure-dependent histone incorporation revealed by a genome-wide deposition assay	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 eLife	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	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 Fujita Risa, Yamamoto Tatsuro, Arimura Yasuhiro, Fujiwara Saori, Tachiwana Hiroaki, Ichikawa Yuichi, Sakata Yuka, Yang Liying, Maruyama Reo, Hamada Michiaki, Nakao Mitsuyoshi, Saitoh Noriko, Kurumizaka Hitoshi	4. 巻 3
2. 論文標題 Nucleosome destabilization by nuclear non-coding RNAs	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Communications Biology	6. 最初と最後の頁 60
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s42003-020-0784-9	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3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 立和名 博昭、大川恭行、胡桃坂仁志、斉藤典子
2. 発表標題 ヒストンH2A.Z による転写活性化クロマチン認識機構の解析
3. 学会等名 第94回日本生化学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Tachiwana Hiroaki, Kurumizaka Hitoshi, Saitoh Noriko
2. 発表標題 Analysis of chromatin dynamics using permeabilized cells and reconstituted histone H2A.Z-H2B complex
3. 学会等名 第80回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 立和名博昭、ダッシェマリコ、前原一満、原田哲仁、大川恭行、木村宏、胡桃坂仁志、斉藤典子
2. 発表標題 転写制御に機能するヒストンH2A.Z のクロマチン局在機構の解析
3. 学会等名 第93回日本生化学会大会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 立和名博昭、斉藤典子	4. 発行年 2021年
2. 出版社 文光社	5. 総ページ数 412
3. 書名 病理と臨床 臨時増刊号 がんゲノム医療時代の分子腫瘍学	

〔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
---------	---------