

令和 6 年 6 月 11 日現在

機関番号：82401

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2023

課題番号：21K16257

研究課題名(和文)複製フォーク上での異性型ポリコム抑制性複合体1による造血前駆細胞の運命制御機構

研究課題名(英文)PCGF1-PRC1 in the vicinity of the fork safeguards multipotency of hematopoietic progenitor cells

研究代表者

高野 淳一郎 (Takano, Junichiro)

国立研究開発法人理化学研究所・生命医科学研究センター・特別研究員

研究者番号：00852162

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：クロマチン継承を最適化する機構と、その機構による細胞運命制御の解明を目指した。そして、PRC1の亜型PCGF1-PRC1が複製フォーク近傍に局在し、血球系前駆細胞(HPC)においてフォーク近傍へのクロマチンリモデリング因子の接近を阻害する結果、ヌクレオソーム再構築を最適化し、ミエロイド関連遺伝子の異常発現を抑制する事で、HPCの多分化能を維持する事を示し、クロマチン継承におけるPRCの役割と細胞運命決定との間のリンクを見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

従来エピジェネティックな細胞運命制御を説明するにあたり、細胞分裂時のヌクレオソーム再構築の重要性が指摘されて来たが、その証拠は十分ではなかった。当研究ではDNA複製時のクロマチン継承に関する事象が、実際に細胞運命に影響を与える事例を提示した事と、その過程で、PRC1によるクロマチンリモデリング因子の阻害作用が重要であることを示し、領域の理解を進めた事に学術的意義がある。また、DNA複製に関連したプロセスの異常が悪性疾患の発症につながることを考えると、DNA複製を介した細胞運命決定機構の理解は、悪性腫瘍の成因の理解、治療戦略の開発にも貢献する可能性があると考えられる。

研究成果の概要(英文)：We've explored the mechanisms regulating the reconstitution of nucleosome during DNA replication and their roles in cell fate determination. We revealed that in hematopoietic progenitor cells (HPCs), PCGF1-PRC1 localized in the vicinity of the replication fork to prevent aberrant over-loading of chromatin remodeling factors, thereby PCGF1-PRC1 maintains proper nucleosome densities immediately after the passage of the fork to optimize reconstitution of nucleosomes. Furthermore, by regulating nucleosome configurations at the replication fork, PCGF-PRC1 facilitates H3K27me3-mediated downregulation of myeloid-related genes to restrict myeloid properties in HPCs. It has been recognized that the balance between activators and repressors is critical to mediate normal differentiation and cell proliferation. Our findings highlight that this counteraction involving PCGF1-PRC1 occurs in the vicinity of the replication fork to stabilize nucleosome conformation and cell fate determination.

研究分野：エピジェネティクス

キーワード：ポリコム群タンパク ヌクレオソーム DNA複製 ヒストン再構築 造血系 細胞運命決定

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

クロマチンはゲノムを外界から保護するのみでなく、遺伝子発現・DNA修復・染色体分離といったプロセスの制御にも寄与する。70年前、ノーベル生理学賞受賞者のマクリントックは以下のように述べた。「分裂して生じる2つの娘細胞は遺伝子の変化に関して同等ではない。分裂後、ある細胞では特定の遺伝子が活性化されるだろうし、別の遺伝子はそこにありながら不活性化される。このような活性化や不活性化は遺伝子がクロマチンに覆われているために生じる。遺伝子の活性化は覆われていた遺伝子が露出した時のみに起こるだろう。」現在のエピジェネティクスも、この考え方を踏襲している。すなわち細胞分裂時に継承されるクロマチンの状態が、遺伝子の発現状態、ひいては細胞運命を規定すると、広く考えられている。しかし、そのメカニズムの詳細は明らかではない。

エピジェネティックな細胞運命制御を理解するにあたり、分化の段階が表面マーカーに基づいて明確に定義されている造血系は理想的なシステムの1つである。全ての血球系細胞は、自己複製能を備えた造血幹細胞(HSC)から作り出される。正常造血の過程で、まずはHSCから造血前駆細胞(HPC)が生じる。増殖を続けるHPCでは、細胞分裂中に次第に個々の細胞の個性が現れ、異なる成熟血球細胞へと分化していく。細胞分裂に際してのDNA複製時に、複製フォークが通過するとクロマチン構造は崩壊し、直ちに新生DNA鎖上に再構築される。上述したクロマチンの役割を鑑みると、細胞分裂中のHPCが適切な遺伝子発現パターン、ひいては分化能を保持するためには、新生DNA鎖上にクロマチン構造が的確に継承される必要があると考えられるが、その機構は不明である。

ポリコム抑制性複合体(PRC)は、ヒストン修飾を介してクロマチンの状態を規定し、細胞の特性の維持に寄与するクロマチン制御因子である。H2AK119のモノユビキチン化(H2AK119ub1)を担うPRC1、H3K27のメチル化(H3K27me3)を行うPRC2の2つの複合体が協調し、標的発現関連遺伝子の発現を抑制することで機能する。

HSCの自己複製能や分化能を含めた、血球系細胞の細胞運命を維持するためには、PRC1に形成される抑制状態が必須であることを、申請者もこれまでに報告して来た(Iwama et al. 2004; Ikawa et al. 2016)。また、DNA複製期におけるPRC1の複製フォーク近傍における局在が報告されていたが(Francis et al. 2009)、複製フォーク上でのPRC1の機能は不明であった。以上から、申請者はPRC1は複製フォーク近傍において、新生DNA鎖上への的確なクロマチン構造の継承に関わっているのではないだろうか、そして、そのことを介してHPCの細胞運命決定に重要な役割を担うのではないかと考えた。

2. 研究の目的

以上を踏まえ、本研究では造血系におけるPRC1のDNA複製時のクロマチン継承制御作用の分子生物学的証拠を得ることで、これまで未知であった複製フォーク上のPRC1の機能を明らかにするとともに、クロマチン継承が細胞運命決定において担う重要な役割の具体例を提唱することを目的とする。

3. 研究の方法

iPOND

iPOND法 isolation of proteins on nascent DNA

チミジンの類縁体であるEdU (5-ethynyl-2'-deoxyuridine; 5-エチニル-2'-デオキシウリジン)はDNAに取り込まれるため、新規に合成されたゲノムDNAを標識することができる。そのEdUでラベルされたDNA鎖に、クリック反応を用いてビオチンを結合させ沈降させることで、

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Junichiro Takano, Shinsuke Ito, Yixing Dong, Tomokatsu Ikawa, Haruhiko Koseki et al.	4. 巻 13
2. 論文標題 PCGF1-PRC1 links chromatin repression with DNA replication during hematopoietic cell lineage commitment.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Nature communications	6. 最初と最後の頁 7159
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41467-022-34856-8	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 該当する

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 2件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Junichiro Takano
2. 発表標題 PCGF1-PRC1 links chromatin replication and cell fate determination during hematopoietic cell lineage commitment
3. 学会等名 日本免疫学会総会（招待講演）
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 Junichiro Takano
2. 発表標題 A role of the PRC1 in the vicinity of the replication fork during early hematopoiesis
3. 学会等名 Cold spring harbour Meetings（国際学会）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 高野淳一郎
2. 発表標題 複製フォーク近傍でのPRC1の役割
3. 学会等名 第18回血液学若手研究者勉強会（麒麟塾）（招待講演）
4. 発表年 2023年

〔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
---------	---------