

平成 30 年 5 月 23 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(A) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15H02369

研究課題名(和文) 染色体4次元構造解析にもとづくゲノム維持・継承メカニズムの解明

研究課題名(英文) Study of genome maintenance / inheritance mechanism based on chromosome 4D structure analysis

研究代表者

白髭 克彦 (SHIRAHIGE, KATSUHIKO)

東京大学・分子細胞生物学研究所・教授

研究者番号：90273854

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 33,400,000円

研究成果の概要(和文)：in situ Hi-C法を導入し、解析データから染色体構造を可視化するパイプラインと結果を可視化するシステムを構築した。本方法を利用し、細胞周期における高次構造の変遷を捉えた。特筆すべき業績として、1)コンデンシンが転写の際に生じる一本鎖DNAを巻き戻し、染色体凝縮を誘導すること、b)ヒトでは2種類あるコヒーシンアセチル化酵素(ESCO1および2)が役割分担をしており、1は細胞周期を通じたアセチル化により姉妹染色分体間接着を誘導し、2は複製装置であるヘリカーゼとともに染色体上を移動し、接着に機能すること、c)機械学習により分裂酵母の複製開始点が3つの要素に依り決定されていること、を見出した。

研究成果の概要(英文)：For this study, we have introduced in situ Hi-C method to explore 3D and 4D structure of genome. Omics analysis pipeline that integrates Hi-C, ChIP-seq, Transcriptome, and Genome sequence data has been developed and help us to visualize chromosome functional structures at various level. Using this pipeline, the transition of the high order structure of chromosome during cell cycle was captured. Notable achievements include 1) Condensin is important for re-annealing of single-stranded DNA generated during transcription, which activity is important for chromosome condensation, b) Two cohesin acetyltransferases (ESCO 1 and 2) in human function in different pathways. 1 induces sister chromatids cohesion throughout the cell cycle, while 2 travels on chromosomes together with DNA helicase during replication, and this interaction with helicase prevent degradation of Esco2. c) Origin of DNA replication of the fission yeast genome is determined by three factors as revealed by machine learning.

研究分野：ゲノム機能構造

キーワード：染色体高次構造 細胞周期 コンデンシン コヒーシン 機械学習

1. 研究開始当初の背景

染色体は生命現象の中核に位置する存在である。遺伝情報の読み出しと継承のための諸反応(転写、複製、修復、凝縮等)が染色体上では並列かつ協調的に遂行されている。申請者はこれら諸反応の様相を、生体内の染色体丸ごと1セットの上での動態として網羅的かつ高解像度に可視化するシステムを長年掛けて構築し、染色体研究に新たな視座を導入することに成功してきた。過去の研究からは、染色体高次構造の重要性が特に浮上した。例えば、我々は複製や転写がDNA高次構造に擾乱を与えること、細胞はその影響を制御する仕組みを有していることを見いだした。また、逆に核内構造が複製や転写等に影響を与えることも判明した。核内の諸反応は染色体構造というハブを介して互いに影響し合う状態にあり、高次構造の適切な制御によって諸反応の協調的な遂行が初めて保障されるものと推察される。染色体を静的な一次元の存在として捉える現行の手法を拡張発展させ、3次元の動的な機能分子として掌握する解析システム("4Dゲノミクス")を構築することが、新たな生物学的原理の発見につながると期待される。4Dゲノミクスを通じてこれを理解することはがんやコヒーシン病等の希少疾患の発生病序解明にも大きく資する。超並列シークエンサー関連技術の発展により、染色体構造を解析するさまざまな手法が考案・発表されている。これらを改良しつつ取り入れ適切に組み合わせることで、染色体構造をさまざまな階層レベルで可視化することは現実的な課題となりつつある(図1)。申請者がこれまでに築いてきたシステム、培ったノウハウやリソースを

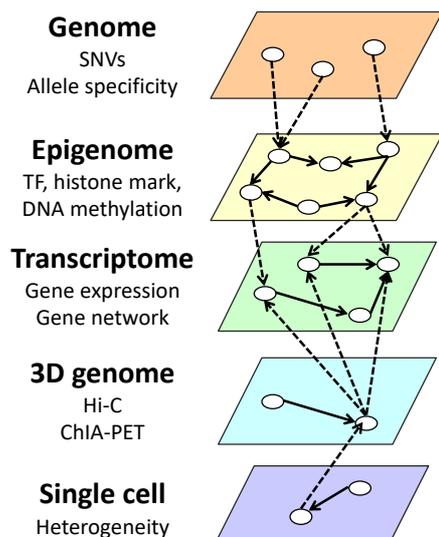


図1 染色体構造を理解していくための各階層塩基配列から、タンパク配置、高次構造、そして、一細胞レベルでのゆらぎまで、本課題ではそれぞれのレベルで染色体構造を理解することを目指した

最大限に活用し、世界に先んじた研究を今後

も成し遂げていくためにも、本申請の実施が重要であると考えます。

2. 研究の目的

染色体は種々の染色体機能の連携と統合の場であり、その統合不全はさまざまな疾病や老化の原因となる。本課題では、巨大な機能分子である染色体の包括的理解を目指し、その複雑な高次構造を網羅的かつ高解像度に可視化するシステムの構築を行い、核構造の制御・遷移という観点からのさまざまな生命現象のモデリングを用いてその背後にある力学を解明することを目的とする。特に、細胞周期の過程における染色体構造変遷を大きな焦点とし、遺伝情報の維持・継承における核高次構造の役割を明らかにする。本申請で展開する新しいゲノミクス・4Dゲノミクスは発がんや細胞老化の分子機序に迫る新たな基盤となる。

3. 研究の方法

本申請課題では、転写や複製、修復、凝縮などのさまざまな核内諸反応が円滑かつ協調的に進行することを保障する染色体がもつメカニズムの解明を目標とする。このために染色体高次構造に焦点を当てた以下の研究を遂行する。

- (1) 染色体DNAの核内3次元構造をさまざまな階層レベルでゲノムワイドに掌握可能な解析システムの構築。
- (2) 1のシステムを適用した細胞周期、がん化等に伴う核内構造の遷移の可視化・ライブラリ化。
- (3) 2で得られる核内4次元構造という枠組みを活用した染色体構造-機能相関のモデリング。
- (4) 遺伝学的手法による核内構造変化を引き起こす分子基盤の理解

4. 研究成果

上記の(1)から(4)に対応する形で記す。
(1) 染色体DNAの核内3次元構造をさまざまな階層レベルでゲノムワイドに掌握可能な解析システムの構築。

まず、in situ Hi-C法を導入し、解析データから染色体構造を可視化するパイプラインを構築した。さらに、Hi-Cデータにタンパク局在データ、転写データ、エピゲノムデータ、SNPデータ、一細胞データなど各階層のデータを重ねて表示し、10Mbの解像度から、一塩基の解像度まで段階的に表示可能なシステムを構築した(文献1, 6)。このパイプラインは一部DROMPAとして公開している(<http://www.iam.u-tokyo.ac.jp/chromosomeinformatics/rnakato/drompa/>)。

(2) 本方法を利用し、細胞周期における高次構造の変遷を捉えた。すなわち、G1 期から G2 期にかけて存在する TAD (Topologically Associating Domain) が M 期には消失していく染色体の高次構造の変化を捉えることに成功した (図 2)。また、コンデンシンやコ

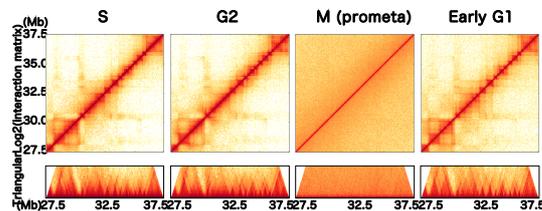


図 2 細胞周期におけるヒト 21 番染色体 (27.5-37.5Mb 領域) の高次構造の変遷 Hi-C に基づいたヒートマップ。M 期では染色体の高次構造が失われ、均一な構造となっている。

ヒーシンなどの染色体構造を形成するタンパクがどのようにこの高次構造の構築に関与しているかを明らかにした (論文執筆中)。特に、コンデンシン I が比較的近距离 0.1 Mb - 5 Mb の相互作用に必要であるのに対しコンデンシン II が 5 Mb - 10 Mb の相互作用に必要であること (図 3)、コヒーシンが TAD の形成に必須であること (図 4)、コヒーシンローダー量の低下が新たなゲノム領域間の相互作用を誘導し、転写の脱制御に結びついていることを示した。

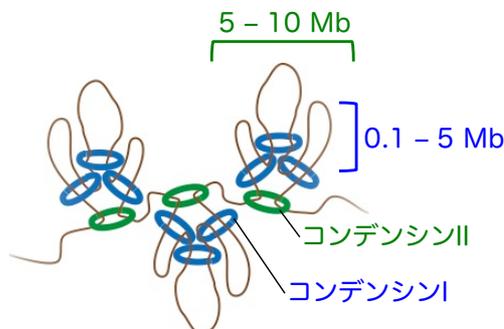


図 3 Hi-C データから予想される 2 つのコンデンシンの作用モデル
コンデンシン I が大きなループを束ねるのに対し、コンデンシン II は小さなループを形成する。

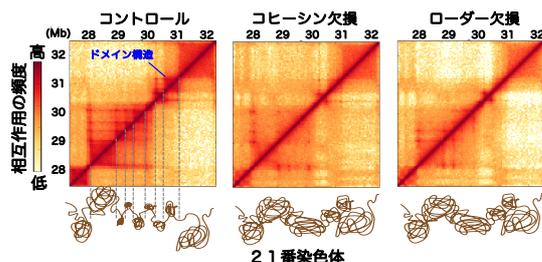


図 4 コヒーシン欠損が染色体高次構造に与える影響
コヒーシン欠損によりゲノム上の TAD とよばれる高次構造が消失して行く

(3) 染色体構造-機能相関のモデリングについては現在のところ、既存のツール (Pastis, TADbit) に自前の可視化ソフトを組み込み使用している。本ツールを用いた場合、コヒーシンローダーの機能が喪失すると、染色体に通常は極めてきれいに住み分けて存在する抑制型と活性型のクロマチンが、混在し無秩序に存在することが示唆された (図 5)

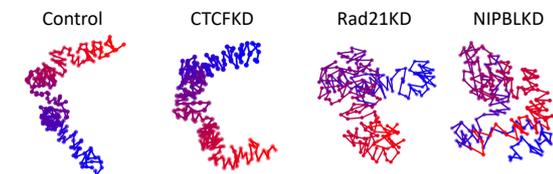


図 5 TADbit による Hi-C データに基づいた 19 番染色体の 3D モデル
赤が活性型、青が抑制型クロマチンを示す。コヒーシンやコヒーシンローダーのノックダウン (右の 2 つ) では活性型、抑制型のクロマチンが入り乱れ、構造の秩序が失われていることがわかる。

(4) 核内構造変化を引き起こす分子基盤の理解については以下の進捗が主たるものである。

- ① コンデンシンが転写の際に生じる一本鎖 DNA を巻き戻し、染色体凝縮を誘導することを見出した (文献 7)。
- ② ヒトでは 2 種類あるコヒーシンアセチル化酵素 (ESCO1 および 2) が役割分担しており、ESCO1 は細胞周期を通じたアセチル化により姉妹染色分体間接着を誘導すること (文献 8) 一方、ESCO2 は複製装置である MCM ヘリカーゼとともに染色体上を移動し、アセチル化を引き起こすこと、また、この MCM との相互作用は ESCO2 の分解を防いでいることを示した (論文投稿中)。
- ③ 機械学習により分裂酵母の複製開始点を決定する 3 つの要素 (塩基組成、近傍遺伝子の転写活性、遺伝子間領域の長さ) について明らかにした (論文準備中)。今後、このような方法論がより包括的にゲノム構造を理解し、将来的には染色体をデザインする上で必要になることが予想される。

5. 主な発表論文等

(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 8 件)

① Sensitive and robust assessment of ChIP-seq read distribution using a strand-shift profile. Nakato R, Shirahige K. Bioinformatics. 2018 doi: 10.1093/bioinformatics/bty137
査読有り

② The HSF1-PARP13-PARP1 complex facilitates DNA repair and promotes

mammary tumorigenesis.

Fujimoto M, Takii R, Takaki E, Katiyar A, Nakato R, Shirahige K, Nakai A.

Nat Commun. 2017;8(1):1638. doi:
10.1038/s41467-017-01807-7

査読有り

③ interleukin-11 induces and maintains progenitors of different cell lineages during *Xenopus* tadpole tail regeneration. Tsujioka H, Kunieda T, Katou Y, Shirahige K, Fukazawa T, Kubo T.

Nat Commun. 2017;8(1):495. doi:
10.1038/s41467-017-00594-5

査読有り

④ Recent advances in ChIP-seq analysis: from quality management to whole-genome annotation. Nakato R, Shirahige K. Brief Bioinform. 2017;18(2):279-290. doi:
10.1093/bib/bbw023 Review.

査読有り

⑤ Attaching Accessory Devices to the Replisome. Sutani T, Shirahige K. Mol Cell. 2016;63(3):347-8. doi:
10.1016/j.molcel.2016.07.017

査読有り

⑥ Rif1 binds to G quadruplexes and suppresses replication over long distances. Kanoh Y, Matsumoto S, Fukatsu R, Kakusho N, Kono N, Renard-Guillet C, Masuda K, Iida K, Nagasawa K, Shirahige K, Masai H.

Nat Struct Mol Biol. 2015;22(11):889-97. doi:
10.1038/nsmb.3102

査読有り

⑦ Condensin targets and reduces unwound DNA structures associated with transcription in mitotic chromosome condensation. Sutani T, Sakata T, Nakato R, Masuda K, Ishibashi M, Yamashita D, Suzuki Y, Hirano T, Bando M, Shirahige K.

Nat Commun. 2015;6:7815. doi:
10.1038/ncomms8815

査読有り

⑧ Esco1 Acetylates Cohesin via a Mechanism Different from That of Esco2. Minamino M, Ishibashi M, Nakato R, Akiyama K, Tanaka H, Kato Y, Negishi L, Hirota T, Sutani T, Bando M, Shirahige K. Curr Biol. 2015;25(13):1694-706. doi:
10.1016/j.cub.2015.05.017

査読有り

[学会発表] (計 5 件)

① Katsuhiko Shirahige

Genetic Link of Human Rare Diseases Identify Regulatory Mechanism of Transcription by Cohesin and its Loader CIFAR Genetic Network Workshop (招待講演) (国際学会) 2016 年

② Toyonari Sakata, Katsuhiko Shirahige Organization of 3D genome structure mediated by cohesin and CTCF EMBO Workshop “Evolution in the Time of Genome Architecture” (招待講演) (国際学会) 2017 年

③ Toyonari Sakata, Katsuhiko Shirahige, Analysis of human chromosome organization mediated by cohesin complex Genetic Networks (GN) Workshop (招待講演) (国際学会) 2017 年

④ Toyonari Sakata, Katsuhiko Shirahige コヒーシンと染色体の高次機能 第 76 回日本癌学会学術総会 (招待講演) 2017 年

⑤ Katsuhiko Shirahige

Transcriptional regulation by cohesin and its loader 第 9 回 NAGOYA グローバルリトリート (招待講演) (国際学会) 2017 年

[図書] (計 2 件)

① Statistical Analysis and Quality Assessment of ChIP-seq Data with DROMPA. Nakato R, Shirahige K. Methods Mol Biol. 2018;1672:631-643. doi:
10.1007/978-1-4939-7306-4_41

② ChIP-seq Analysis of Condensin Complex in Cultured Mammalian Cells. Sakata T, Shirahige K, Sutani T. Methods Mol Biol. 2017;1515:257-271. doi:
10.1007/978-1-4939-6545-8_16

[その他]

ホームページ等

<http://www.iam.u-tokyo.ac.jp/chromosomeinformatics/indexJ.html>

<http://www.iam.u-tokyo.ac.jp/chromosomeinformatics/rnakato/drompa/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

白髭 克彦 (KATSUHIKO SHIRAHIGE)

東京大学・分子細胞生物学研究所・教授

研究者番号：90273854

(2)研究分担者

須谷 尚史 (TAKASHI SUTANI)

東京大学・分子細胞生物学研究所・講師

研究者番号：30401524