

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 6 月 1 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2011

課題番号：22700309

研究課題名（和文）転写のダイナミクス解析と高精度シミュレーションに関する研究

研究課題名（英文）High density simulation for transcriptional dynamics

研究代表者

大田 佳宏（OHTA YOSHIHIRO）

東京大学・先端科学技術研究センター・特任助教

研究者番号：80436592

研究成果の概要（和文）：遺伝子の DNA 配列を鋳型に RNA ポリメラーゼという酵素によって RNA が作られ、RNA の配列をもとに蛋白質が作られることは、生命の基本原則と考えられている。本研究では転写における RNA polymerase II (RNAPII) の運動をエクソン-イントロン間の速度変化を定式化することで、高精度な数値シミュレーションを行った。血管の細胞の主要な遺伝子について、刺激直後から RNA の転写が遺伝子上を波のように遺伝子を伝搬していき、安定的に転写をする状態になってゆく様子を再現することができた。

研究成果の概要（英文）：RNA polymerase II (RNAPII) is the responsible motor protein for transcription. Here we studied the formulation and results of a cellular automaton model of the RNAPII dynamics of gene transcription that takes account the effect of the velocity change according to the gene position, such as occurs in introns and exons. It was found that the RNAPII molecules move as a free-flow state, though regions of reduced velocity do exist such as exons, as far as the time interval between nearest RNAPII molecules is larger than the time required for an RNAPII passing the exclusion length in the velocity reduction region.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,497,996	450,000	1,947,996
2011 年度	1,185,979	360,000	1,545,979
総計	2,683,975	810,000	3,493,975

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：情報学・生体生命情報学

キーワード：転写、シミュレーション、RNAPII、RNA、セルオートマトン

1. 研究開始当初の背景

遺伝子の DNA 配列を鋳型に RNA ポリメラーゼという酵素によって RNA が作られ、RNA の配列をもとに蛋白質が作られることは、生命の基本原則と考えられている。しかし、ヒトの細胞核内の DNA は、蛋白質の情報をもつ部分が飛び飛びに存在し、しかも DNA がヒストンという蛋白質にまきついて

染色体を作るため、DNA から RNA が作られるところを実際に観察するのはこれまで困難だった。一方で近年、ゲノムの解読からヒトの染色体のもつ DNA の配列が明らかになり、RNA が作られて行く全体像を解読することが可能となってきている。

報告者らは、ヒトの血管の細胞が炎症の刺激をうけた後、7.5 分おきに RNA が作られて行

く様子を染色体上で観察、RNAPII が 3100 塩基 (約 1 ミクロン) / 分で動き、未熟な RNA が切断されると同時に次々と作られていく過程を観測することに成功し、Science 誌の Editors' Choice に選ばれた。通常 DNA は CTCF/Cohesin というタンパク質が作用し、束ねられ、RNAPII は活性化される前から、この CTCF/Cohesin で区切られた染色体上の特定の狭い領域に集まっているが、活性化されるとそこから動きだし、さらに先の CTCF/Cohesin の部分でスピードダウンしながら進んでいくことも見いだした。従来ポリメラーゼは確率的に動いたり止まったりすると考えられていたが、今回この種の蛋白質が、転写のダイナミクスを制御していることを明らかにした。

このような遺伝子転写の調節をするタンパク質を制御する薬を開発することによって、疾患遺伝子の発現を調節する新しい可能性が示唆される。この目的を達成するために、本研究では正常ヒト臍帯静脈内皮細胞の主要な遺伝子について、特定のタンパク質を阻害した場合など、様々なケースについて、転写のダイナミクス解析と高精度シミュレーションを行う。本研究の結果は、今後の医薬品開発にとって重要な意義を持つと考えられる。

2. 研究の目的

報告者らは CTCF/Cohesin の有無で転写をつかさどる RNAPII の運動が変わる様子を発見したが、CTCF/Cohesin が有るとき、RNAPII は CTCF/Cohesin のあるところで停留し、濃度差が大きくなる。一方、CTCF/Cohesin が無いとき、RNAPII の濃度差は遺伝子全体で平坦になっていくことを発見した。正常ヒト臍帯静脈内皮細胞の主要な遺伝子について、転写運動の障害となりうる蛋白質の座標情報を ChIP-Seq データから取得し、その情報をもとに、セルオートマトンモデルを用いて、各遺伝子の転写ダイナミクスのシミュレーションを行うことを目的とする。

また、RNA の転写が遺伝子上を波のように SAMD4A 遺伝子を伝搬していく様子もとらえることに成功している。ここでは、RNA プローブを遺伝子にしきつめたタイリングアレイで計測し、転写の全体像を得ることができた。遺伝子の位置を X 軸に、Y 軸に時間、Z 軸に RNA の発現の強さを表示。遺伝子はイントロン部分とエクソンの部分からなり、イントロン部分の RNA を赤で、イントロン部分を黄色で示した。上記で得られた RNAPII ダイナミクスの座標情報から、正常

ヒト臍帯静脈内皮細胞の主要な遺伝子について生成される RNA の時間・空間上での発現量の高精度シミュレーションを行い、実験結果と合わせてモデルの検証を行うことを目的とする。

従来の医学生物学と高度情報解析の融合によって、根源的な生命現象の解明が可能になってきている。例えば、RNAPII が確率的に変化するというのが従来の扱いだだったが、今回エピジェネティックな効果の一つである CTCF/Cohesin の影響で、RNAPII の運動は細胞中でメカニカルな形で明示的に制御されていることが高度情報解析によって明らかになった。確率的な変化は制御しにくいですが、エピゲノム修飾による変化ならば制御することも人為的に可能である。従来とは全く異なる新しい方法、例えば、CTCF/Cohesin を制御する薬の開発によって、疾患遺伝子の発現を調節する新しい可能性が示唆される。

3. 研究の方法

遺伝子発現の時間・空間における依存性を精密に測定し、大量データの詳細な解析から導いた結果に対し、さらに実験で確認するという、実験と情報解析のタイトな連携によって新規知見の発見につなげたいと考えている。本研究では、この解析結果から RNAPII が遺伝子を転写していくダイナミクスをモデル化し、高精度シミュレーションを行うことによって、転写のモデルを実証する。具体的には、RNAPII 実体のダイナミクスモデルとしてセルオートマトンを用いた高精度シミュレーションを行い、さらに、RNAPII が生成した RNA の時間・空間上での発現量の高精度シミュレーションを行うことで、特定の遺伝子群での RNAPII の動きを制御する新しいコンセプトの治療薬開発につながる発見をすることを目的とする。また、実際の ChIP-Seq のデータを統合することにより、これまで困難と思われていた、複数の RNAPII とエピジェネティックな相互作用を導入した高精度シミュレーションを行う。

(1) RNAPII 実体のダイナミクスモデルとしての高精度シミュレーション

報告者らは、転写における RNAPII の速度を計算し、さらに ChIP-chip 解析の結果から、RNAPII の運動は一樣な流れとしてよりも、障害物中の流れにみえることを発見した。これらの新規知見を導入し、実体としての RNAPII の解析結果を用いて、転写における RNAPII の運動の高精度シミュレーションを行う。実体としての RNAPII は、実験結果に示されるように、刺激後、遺伝子上を、0 分、30 分、60 分と、約 3100 塩基 (約 1 ミクロン) / 分

の速度で移動していく。本シミュレーションでは、上記の困難な問題点を解決するため、セルオートマトンをベースに、複数の RNAPII が相互作用をしながら移動していく蓄積排他モデルを導入する。

パラメータとしては、速度 v 、CTCF/Cohesin などの蛋白質との摩擦係数 γ 、細胞の確率密度分布 P 、RNAPII の個数 N 、RNAPII の間隔 $N(t)$ 、などを設定する。この技術を応用して、正常ヒト臍帯静脈内皮細胞の主要な遺伝子について、CTCF/Cohesin が RNAPII の運動の障害物になっていることなど、様々なケースについて、RNAPII ダイナミクスの高精度なシミュレーションを行う。

(2) RNAPII が生成した RNA の時間・空間上での発現量の高精度シミュレーション
報告者らは、空間分解能の高いカスタムのタイリングアレイを用いて、細胞刺激に RNAPII が作る RNA を 7.5 分という短い時間間隔で計測し、そこから得られる大量データを高精度に解析した。その結果を応用し、上記の (1) で得られた RNAPII ダイナミクスの座標情報を引数にとり、正常ヒト臍帯静脈内皮細胞の主要な遺伝子について、発現されるエクソン、イントロン領域の RNA 量を、時間・空間上で高精度にシミュレーションすることで予測する。ここで、時間・空間の分解能は、1 (秒)・1(nt) レベルの高密度な計算とする。

パラメータとしては、細胞の確率密度分布 P に加えて、RNA の減衰係数 τ 、TSS 蓄積係数 α 、などを用いた。この図に見られるように、イントロン部分の RNA は時間が経つと消滅し、エクソン部分の RNA は時間とともに蓄積されているように見える。刺激直後 (start) から (end) まで、RNA の転写が遺伝子上を波のように遺伝子を伝搬していき、安定的に転写をする状態になってゆく。

本技術を実際のエクソン-イントロン情報と統合することでさらに応用し、すべての遺伝子において、特定の蛋白質を阻害した場合など、転写の際の RNA 発現量のシミュレーションを行う。

4. 研究成果

本研究では、2010 年度において、遺伝子の転写に関する実験解析結果から RNAPII が遺伝子を転写していくダイナミクスをモデル化し、高精度シミュレーションを行うことで転写モデルの実証を行った (図 1)。具体的には、RNAPII が生成した RNA の時間・空間上での発現量の高精度シミュレーションを行い、実験結果との比較・検証を行った。ここで、

時間・空間の分解能は、1 (秒)・1(nt) レベルの高密度な計算とし、パラメータとしては、細胞の確率密度分布 P に加えて、RNA の減衰係数 τ 、TSS 蓄積係数 α 、などを用いた。その結果、本シミュレーション結果は、実際のタイリングアレイによる実験結果を非常によく再現しており、複数の RNAPII が協調的に転写運動を行っていることを示した。ここで得られた結果は、国際会議 PSB2011 において発表を行った。また、転写因子の複合体解析についての論文を、雑誌 "The Journal of Biological Chemistry" に発表した。

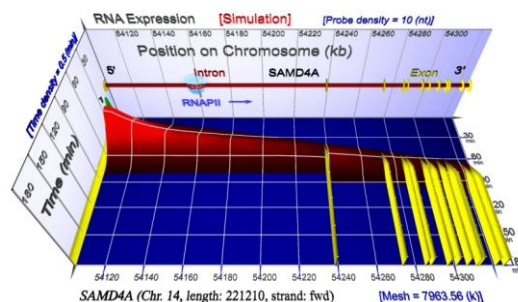


図1:SAMD4A遺伝子のRNAシミュレーション

さらに、報告者らは転写における RNAPII の速度を計算し、ChIP-chip 解析の結果から RNAPII の運動は一様な流れとしてよりも障害物中の流れにみえることを発見したが、これらの新規知見を導入して、2011 年度においては、実体としての RNAPII の解析結果を用いて転写における RNAPII の運動の高精度な数値シミュレーションを行った。

本シミュレーションでは、セルオートマトンをベースに複数の RNAPII が相互作用をしながら移動していく蓄積排他モデルを導入した。パラメータとしては、速度 v 、CTCF/Cohesin などの蛋白質との摩擦係数 γ 、細胞の確率密度分布 P 、RNAPII の個数 N 、RNAPII の間隔 $N(t)$ 、などを設定した。この技術を応用して、CTCF/Cohesin が RNAPII の運動の障害物になっていることと特定の蛋白質を阻害した場合の RNAPII 運動の高精度シミュレーションを行った。

さらに 2010 年度の成果で得られた RNAPII ダイナミクスの座標情報を引数にとり、発現されるエクソン、イントロン領域の RNA 量を時間・空間上で高精度にシミュレーションした。ここでパラメータとしては、細胞の確率密度分布 P に加えて、RNA の減衰係数 τ 、TSS 蓄積係数 α 、などを用いることで、イントロン部分の RNA は時間が経つと消滅し、エクソン部分の RNA は時間とともに蓄積されている様子や、刺激直後から RNA の転写が遺伝子上を

波のように遺伝子を伝搬していき安定的に転写をする状態になってゆく様子を再現することができた。

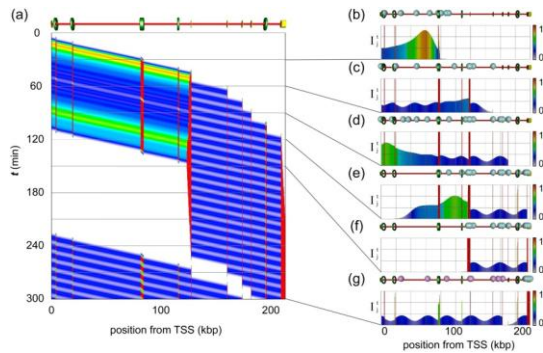


図2: 転写のRNAPIIのCAシミュレーション

またここでは、転写における RNAPII 運動の解析解を初めて導出した。具体的には、転写の際に RNAPII の速度変化が起こる染色体部位で RNAPII の渋滞が発生する特異点を解析的に導出し、この種の運動状態変化が同一特異点での不可逆性を持つヒステリシス現象を示すことも導出した。これは、転写の際に協調運動を行う RNAPII の相互間隔はある種の記憶として保持され、その記憶は変換後の相互間隔の観察により再計算が可能であるということの意味する。また、このヒステリシスが解消する臨界点においては、特徴的な動きをする RNAPII が 1 分子だけ存在することも発見した (図 2)。

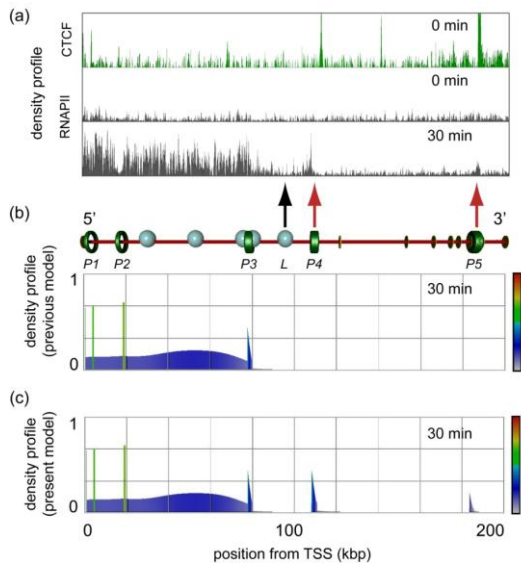


図3: DNA構造変化時のシミュレーション

近年、染色体が 3 次元構造を形成して遺伝子・エクソン間の 3 次元物理距離が変化するという研究結果が発表されている。ここでは、

本モデルにおける CA のセルに相当する DNA が 3 次元構造変化をおこす場合、離れた遺伝子・エクソン間での相互移動を仮定することが可能となる。この CA における Path preference の特性を調べるため、RNAPII 移動量と RNA 発現量を出力として数値解析とシミュレーションを行なった。その結果、これまで説明の不可能だった ChIP-chip による実験結果を再現することが可能となった (図 3)。

これらの研究成果は、Physical Review E、The EMBO Journal、The Journal of Clinical Investigation の各ジャーナルに掲載された。

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 5 件)

① Kawamura T, Ogawa Y, Nakamura Y, Nakamizo S, Ohta Y, Nakano H, Kabashima K, Katayama I, Koizumi S, Kodama T, Nakao A, Shimada S. "Severe dermatitis with loss of epidermal Langerhans cells in human and mouse zinc deficiency", The Journal of Clinical Investigation, 122(2): 722 - 732, 2012. (doi:10.1172/JCI58618) 査読有。

② Ohta Y, Kodama T, Ihara S. "Cellular-automaton model of the cooperative dynamics of RNA polymerase II during transcription in human cells", Physical Review E, 84, 041922 (2011) [15 pages]. (doi:10.1103/PhysRevE.84.041922) 査読有。

③ Kanki Y, Kohro T, Jiang S, Tsutsumi S, Mimura I, Suehiro J, Wada Y, Ohta Y, Ihara S, Iwanari H, Naito M, Hamakubo T, Aburatani H, Kodama T, Minami T. "Epigenetically coordinated GATA2 binding is necessary for endothelium-specific endomucin expression", The EMBO Journal, 30, pp.2582 - 2595 (10 June 2011). (doi:10.1038/emboj.2011.173) 査読有。

④ Daigo K*, Kawamura T*, Ohta Y*, (* These 3 authors contributed equally), Ohashi R, Katayose S, Tanaka T, Aburatani H, Naito M, Kodama T, Ihara S, Hamakubo T. "Proteomic analysis of native hepatocyte nuclear factor-4 α (HNF4 α) isoforms, phosphorylation status, and interactive cofactors", The Journal of Biological

Chemistry, Vol.286, No.1, pp.674-686,
Jan.7, 2011.
(doi:10.1074/jbc.M110.154732) 査読有。

⑤ Papantonis A, Larkin JD, Wada Y, Ohta Y, Ihara S, Kodama T, Cook PR.
"Active RNA Polymerases: Mobile or Immobile Molecular Machines?",
PLoS Biology, July 2010, Volume 8,
Issue 7, e1000419.
(doi:10.1371/journal.pbio.1000419)
査読有。

[学会発表] (計1件)

① Ohta, Yoshihiro, "High Density Spatial and Temporal Simulation Reveals Transcriptional Dynamics", The Pacific Symposium on Biocomputing (PSB) 2011, January 4-8, 2011, Kona, USA.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

大田 佳宏 (OHTA YOSHIHIRO)
東京大学・先端科学技術研究センター・
特任助教
研究者番号：80436592

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：