

令和元年6月21日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K20975

研究課題名（和文）発生初期の分化多能性獲得過程における転写因子のクロマチン結合動態の解析

研究課題名（英文）Chromatin accessibility dynamics during early embryogenesis

研究代表者

中村 遼平（Nakamura, Ryohei）

東京大学・大学院理学系研究科（理学部）・助教

研究者番号：30756458

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）：メダカ初期胚において、転写因子結合部位の動態を記載することができた。特に、受精後の胚性遺伝子活性化が起こる時期にオープンクロマチン領域が出現することを示した。この過程において、受精後、オープンクロマチンが生じるのとほぼ同時にクロマチンの3次元構造の一つであるコンパートメントと呼ばれる転写の活性状態と抑制状態を反映するMbスケールの構造が形成されることが明らかになった。ATAC-seqにより得られたオープンクロマチン領域とクロマチン3次元構造データを比較解析した結果、これらオープンクロマチンがクロマチンのコンパートメント構造と密接に関連していることを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

脊椎動物の発生の初期段階において、受精卵はリプログラミングを受け、分化多能性を持つ細胞集団（胞胚期）を作る。この過程において、親から受け継いだクロマチンのエピジェネティック修飾パターンは、多能性細胞の転写状態を制御するためのパターンに戻される。DNAメチル化やヒストン修飾については受精直後の動態が明らかにされつつあるが、それを制御すると考えられる転写因子のクロマチンへの結合動態については、初期胚の細胞数の少なさなどの問題から解析されていなかった。本研究によって得られた結果は、リプログラミング過程のクロマチン動態を記載したもので、分化多能性の制御機構の理解につながる。

研究成果の概要（英文）：In this study, we investigated the dynamics of chromatin accessibility during medaka early embryogenesis using ATAC-seq. We found that the accessible chromatin emerges genome-wide during this period. Furthermore, we found that chromatin three-dimensional structure greatly changes during the embryogenesis. Importantly, the pattern of accessible and closed chromatin appeared almost simultaneously with A/B compartments.

研究分野：エピジェネティクス

キーワード：クロマチン 脊椎動物 リプログラミング

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

脊椎動物の発生の初期段階において、受精卵はリプログラミングを受け、分化多能性を持つ細胞集団(胞胚期)を作る。この過程において、親から受け継いだクロマチンのエピジェネティック修飾パターンは、多能性細胞の転写状態を制御するためのパターンに戻される。DNAメチル化やヒストン修飾については受精直後の動態が明らかにされつつあるが、それを制御すると考えられる転写因子のクロマチンへの結合動態については、初期胚の細胞数の少なさなどの問題から解析されていなかった。

2. 研究の目的

本研究は転写因子の結合を少数細胞から網羅的に解析できる ATAC-seq と、受精直後の胚を大量に得られるメダカを用いることで、今まで未知であった胞胚期以前の転写因子結合動態を記載し、クロマチンのリプログラミングの転写因子による制御機構を解明することを目的とした。

3. 研究の方法

本研究では、受精直後(1細胞期)から胞胚期までの間に段階的に ATAC-seq を行うことで、いつどの領域のクロマチンが開き、どの塩基配列がタンパク質によって結合されるかを網羅的に同定する。さらに、クロマチン3次元構造情報と比較解析することで、転写因子の結合動態のリプログラミング機構について考察する。

4. 研究成果

メダカ初期胚において、転写因子結合部位を同定することができた。特に、受精後の胚性遺伝子活性化が起こる時期にオープンクロマチン領域が出現することを示した。この過程において、クロマチンの3次元構造も大きく変化するのではないかと考えた。クロマチン高次構造の変化と転写因子結合動態の関連を明らかにするために、メダカの胚性ゲノム活性化過程において3次元の接触情報を Hi-C 法により収集した。その結果、体細胞で見られる階層的なクロマチンの3次元構造が胚性ゲノム活性化以前は存在せず、胚性ゲノム活性化と同時に確立されることが明らかになった(図1)。特に、受精後、オープンクロマチンが生じるのとほぼ同時にクロマチンの3次元構造の一つであるコンパートメントと呼ばれる転写の活性状態と抑制状態を反映する Mb スケールの構造が形成されることが明らかになった。

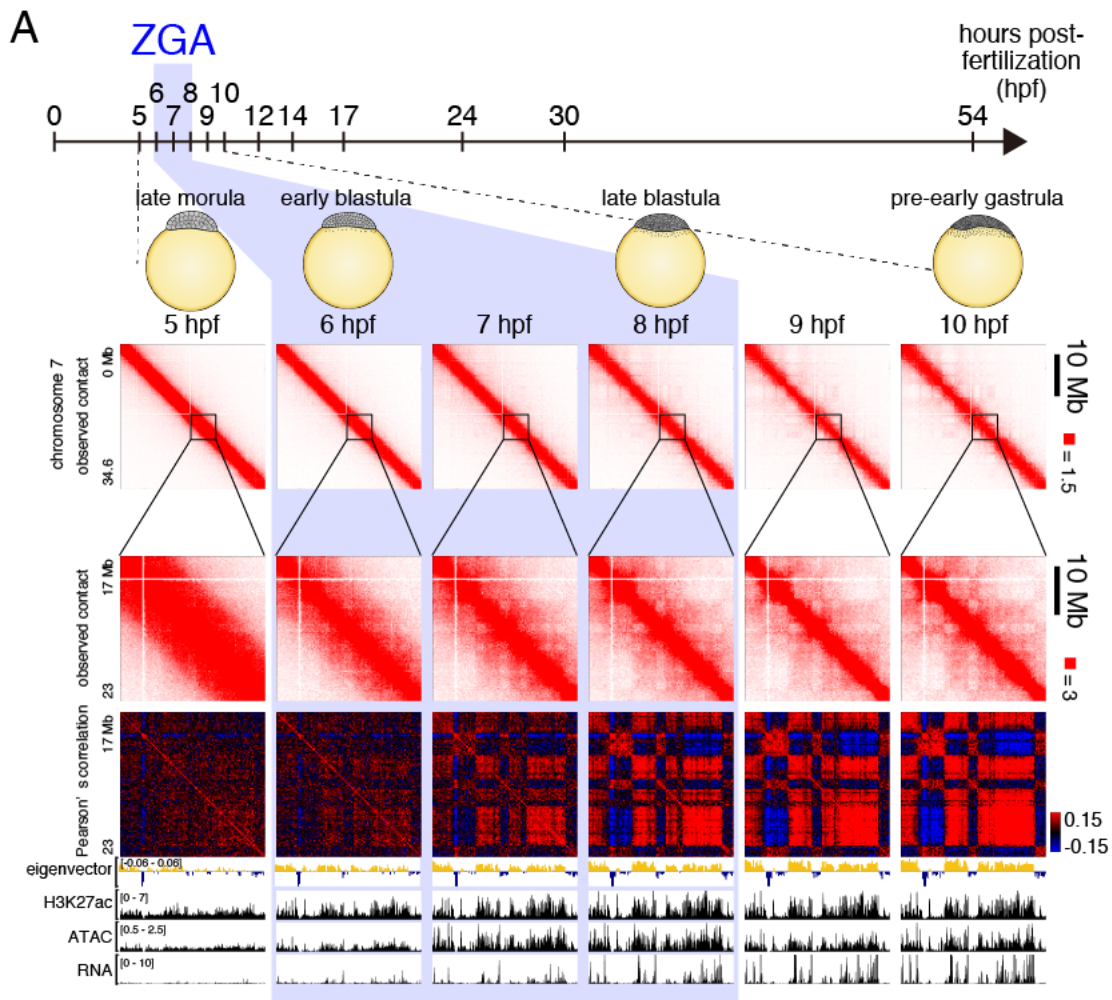


図1. メダカ胚性ゲノム活性化過程におけるクロマチン3次元接触情報マップ(Hi-C)とオープンクロマチン(ATAC-seq)。発生初期(stage 9)では特異的な接触は起きていないが、発生が進むにつれて Mb スケールの特異的な構造パターンが形成されていく。

ATAC-seqにより得られたオープンクロマチン領域とクロマチン3次元構造データを比較解析した結果、これらオープンクロマチンがクロマチンのコンパートメント構造と密接に関連していることを明らかにした(図1)。一方で、オープンクロマチンが形成された胞胚期においては、まだクロマチンのループ構造ができていないことも明らかになった。ループ構造は、胞胚期よりも後の原腸形成期形成されるが、インシュレータータンパク質であるCTCFはそのループの基部に胞胚期よりも前から結合していることを明らかにした。以上により、初期胚のリプログラミング過程における転写因子結合動態を記載し、それとクロマチン3次元構造動態との関連を明らかにした。

さらに、初期胚におけるクロマチンリプログラミング過程におけるオープンクロマチンへのヒストン修飾の影響を検証する目的で、ヒストン修飾の編集技術の確立を行った。特に、メダカ受精卵における抑制型ヒストン修飾(H3K27me3)の付加技術を確立した。生体(in vivo)におけるH3K27me3の編集は本研究が初である。

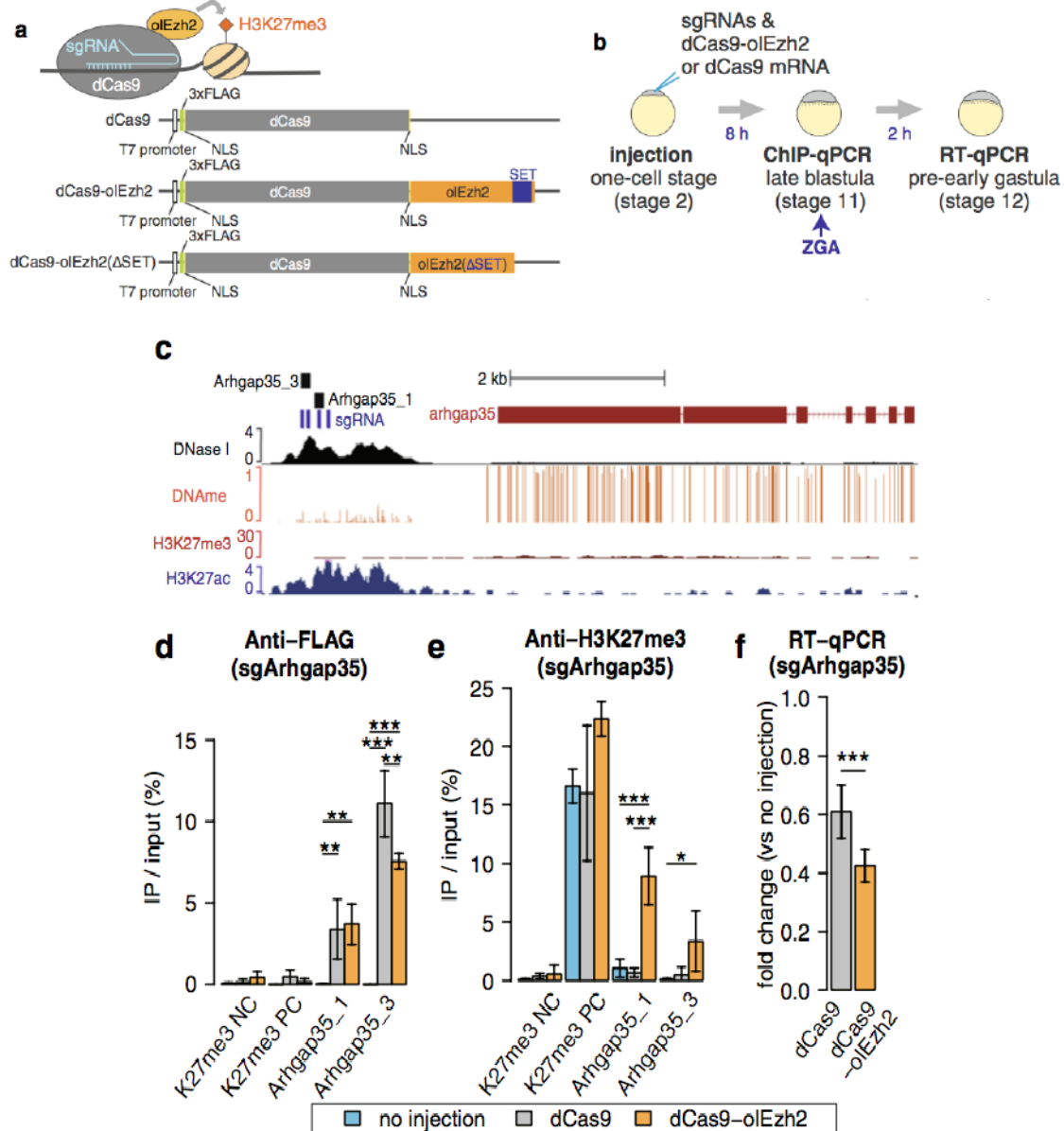


図2. メダカ胚におけるH3K27me3の編集技術の確立。(a) H3K27me3編集のためのコンストラクト。(b) 実験概要。(c) ターゲット遺伝子周辺のエピジェネティック情報。(d) FLAG抗体によるChIP。(e) H3K27m3抗体によるChIP。(f) ターゲット遺伝子の発現量。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕（計 2件）

1. Hiroto S Fukushima, Hiroyuki Takeda, & Ryohei Nakamura, Targeted in vivo epigenome editing of H3K27me3. *Epigenetics & Chromatin* 12:17 (2019). （査読有）
DOI: 10.1186/s13072-019-0263-z
2. Ryohei Nakamura, Ayako Uno, Masahiko Kumagai, Shinichi Morishita & Hiroyuki Takeda, Hypomethylated domain-enriched DNA motifs prepattern the accessible nucleosome organization in teleosts. *Epigenetics & Chromatin* 10:44 (2017). （査読有）
DOI: 10.1186/s13072-017-0152-2

〔学会発表〕（計 4件）

1. Ryohei Nakamura, Establishment of the three-dimensional genome structure during medaka fish development. *Keystone Symposia; 3D Genome: Gene Regulation and Disease* (2019)
2. Ryohei Nakamura, Establishment of the three-dimensional genome structure during vertebrate embryogenesis. *Tokyo 2018 Cell and Developmental Biology Meeting* (2018)
3. Ryohei Nakamura, Establishment of the three-dimensional genome structure in medaka fish embryos. *Keystone Symposia; Chromatin Architecture and Chromosome Organization* (2018)
4. Ryohei Nakamura, Establishment of the three-dimensional genome structure in vertebrate early embryos. *18th International Congress of Developmental Biology* (2017)

6. 研究組織

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。