

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 3 年 5 月 12 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2018～2020

課題番号：18K03558

研究課題名（和文）コヒーシンの浸透圧によるDNAループの形成機構

研究課題名（英文）Mechanism of DNA loop formation by osmotic pressure of cohesin

研究代表者

山本 哲也（Yamamoto, Tetsuya）

北海道大学・化学反応創成研究拠点・特任准教授

研究者番号：40610027

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,000,000円

研究成果の概要（和文）：真核生物のDNAは、10k-1Mbpsの長さのループを形成しています。DNAループは、コヒーシンがDNAを一方向に押し出すループ押し出し運動によって形成されていることが示唆されています。コヒーシンを壊すと、スーパーエンハンサと呼ばれるDNA領域のターゲット遺伝子の転写量が減少します。スーパーエンハンサは転写凝集体と呼ばれる転写に必要な因子が凝集した構造体の表面に局在しています。本研究では、ループ押し出しによるDNAの運動の解析を行い、ループ押し出しが転写凝集体の界面張力を小さくすることと、ターゲット遺伝子の転写凝集体内の転写装置へのアクセシビリティを高くすることを理論的に明らかにしました。

研究成果の学術的意義や社会的意義

多細胞生物は、様々な種類の細胞から構成されていますが、どの細胞も同じDNA（設計図）から形成されています。設計図は転写と呼ばれる過程によって読み取られますが、私の研究は、DNAの中で読み取られる部分と読み取られない部分が決定される機構（遺伝子制御機構）を物理を用いて明らかにするものです。本研究課題は、DNAの構造形成に重要な分子であるコヒーシンが、DNAの読み取り頻度に与える影響を理論的に調べたもので、遺伝子制御の物理を作るための重要なピースです。

研究成果の概要（英文）：DNA in eukaryotic cells is composed of DNA loops of the order of 10k-1Mbps. The DNA loops are produced by the loop extrusion process, with which cohesin uni-directionally translocates DNA with a constant rate. With cohesin removal, the transcription levels of the target genes of superenhancers decreases significantly. The superenhancers are localized at the surfaces of transcriptional condensates, which are composed of transcriptional machineries. We have analyzed the dynamics of DNA at the surfaces of transcriptional condensates to theoretically predict that the loop extrusion process decreases the surface tension of transcriptional condensates and enhances the accessibility of the target genes of superenhancers to the transcriptional machineries in the condensates.

研究分野：転写制御の物理

キーワード：ループ押し出し スーパーエンハンサ 転写凝集体 転写ダイナミクス

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、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

真核生物の DNA は、トポロジカルドメイン (Topologically Associated Domains) と呼ばれる領域から構成されていることが最近の Hi-C 実験によって明らかになってきた (Dixon et al., Nature, 2012, Nora et al., Nature, 2012)。トポロジカルドメインは、DNA のループから構成されており (Rao et al., Cell, 2014)、コヒーシスが DNA を一方向に押し出すループ押し出し運動によって形成されていることが理論的に提案されていた (Fudenberg et al., Cell Rep., 2016, Sanborn et al., PNAS, 2015)。研究開始当初に行われていた一分子計測実験では、コヒーシスはモータではなく、拡散による双方向運動しかしないことが示されていた (Stigler et al., Cell Rep. 2016, Davidson et al., EMBO, 2016, Kanke et al., EMBO, 2016)。コヒーシスがモータではないとしたら、なぜループ押し出し運動が起こるのだろうか? 当時、コヒーシスがループを形成するためには、ダイマーを形成しなければならないことが示唆されていた (Stigler et al., Cell Rep. 2016)。コヒーシスは、通常はモノマーとして DNA にロードされ、ダイマーとしてロードされる場合は比較的頻度が低いと考えられるため、私たちは、コヒーシンモノマーによって発生する浸透圧が、コヒーシンドダイマーの一方向運動を駆動するという浸透圧機構を提案してきた (Yamamoto and Schiessel, PRE, 2017)。

2. 研究の目的

ループ押し出し運動によって駆動する DNA の運動を理論的に明らかにする。

3. 研究の方法

ビーズスプリングモデルを用いて、ループ押し出しがあるときの DNA の運動を解析する。

4. 研究成果

研究開始後、コヒーシスは、コヒーシンローダである NIPBL と複合体を作って、一方向運動することを示す一分子計測実験が発表された (Davidson et al., Science, 2019)。また、コヒーシスを壊してもほとんどの遺伝子の転写レベルはほとんど変化しないが、スーパーエンハンサのターゲット遺伝子の転写レベルが減少すること (Rao et al., Cell, 2017)、転写に必要な分子が凝集体 (転写凝集体) を形成し、スーパーエンハンサは転写凝集体の表面に局在化していること (Sabari et al., Science, 2018) が実験的に示された。これらの新しい実験結果を反映して、研究計画を変更し、コヒーシスをモータとして扱った場合に、ループ押し出しによる DNA の運動の解析を行った。

1) ループ押し出しによる DNA の運動

私たちは、DNA のループ押し出し運動を考慮に入れて、高分子運動のモデルであるビーズスプリングモデル (ラウスモデル) を拡張し、表面から離れた空間 (バルク溶液中) での DNA の運動と凝集体表面の DNA の運動の解析を行った (図 1)。DNA 形状を表すパラメータとしては、高分子物理でよく使われる末端間ベクトルの拡張として、開始-終了サイト間ベクトルの二乗平均を用いた。ループ押し出しによってコヒーシスが DNA に加える力をランジュバン方程式に加えて、グリーン関数を用いて解析を行った。その結果、バルク溶液中の DNA では、ループ押し出し開始-終了サイト間ベクトルの二乗平均がほぼ一定のレートで小さくなるのに対して、界面の DNA の開始-終了サイト間ベクトルの二乗平均間ベクトルの二乗平均は、短い時間スケールでほとんど変化せずに、緩和時間後に急に小さくなることが理論的に明らかになった (図 2)。その原因は、バルク溶液中の DNA の両サイトともに束縛されていないので、コヒーシンによって加えられた張力は開始サイトが移動することによって緩和されるのに対して、界面に開始サイトが束縛された DNA では、コヒーシンによって加えられた張力が終了サイトに到達するまで DNA が縮むことができないことによる。本研究の結果は、欧州物理学会が刊行している *Europhysics Letters* 誌に掲載され (T. Yamamoto, T. Sakaue, and H. Schiessel, *Europhys. Lett.*, **127**, 38002, 2019)、論文のネットワークの 1 つが 2020 年度の表紙に選ばれた (図 3)。

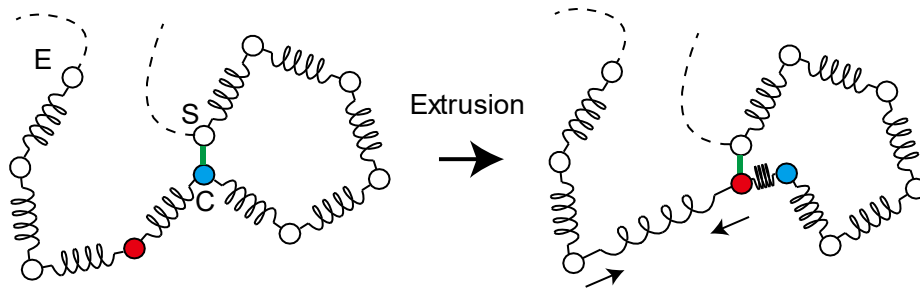


図1 ループ押し出し運動を考慮に入れたビーズスプリングの拡張。

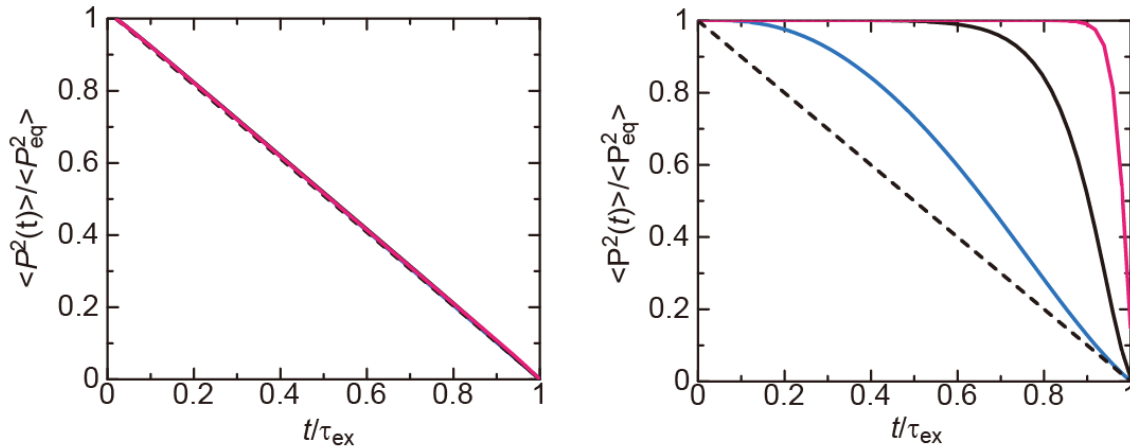


図2 バルク溶液中 (左) と凝集体界面 (右) での開始-終了サイト間ベクトルの二乗平均 $\langle P^2(t) \rangle$ の時間依存性。開始-終了サイト間ベクトルの二乗平均は平衡状態の値 $\langle P_{eq}^2 \rangle$ で、時間はループ押し出しにかかる時間 τ_{ex} で規格化している。



図3 2020年度のEurophysics Lettersの表紙。

2) 凝集体表面のDNAのループ押し出しによる表面圧力の発生

スーパーエンハンサ間の接触頻度は比較的高く、コヒーシンを壊すとさらに高くなる (Rao *et al.*, *Cell*, 2017)。この実験結果は、スーパーエンハンサが凝集体表面に局在化していることを考慮に入れると、どのように解釈できるだろうか。凝集体表面に局在化しているDNAの濃度が高くなると、DNAの間の体積排除相互作用によって界面と平行な方向に表面圧力が生じる。表面圧力は、表面張力と反対の方向の表面力であるので、凝集体内部の圧力を小さくする。相分離ダイナミクスの理論によると、圧力の高い凝集体内の分子は外部溶液に解けやすく、圧力の小さい凝集体内の分子は外部溶液に溶けにくいので、表面圧力が大きい凝集体は大きくなり、表面圧力の小さい凝集体は小さくなる。高分子ブラシの簡単な理論であるアレクサンダーモデルにオンサーガーの変分原理を適用することによって、ループ押し出しによるDNAの運動をDNA間の相互作用がある場合について解析した (図4)。このモデルは、研究1で用いたモデルにユニット間の体積排除相互作用を考慮に入れる代わりに、ダンベルモデルの形に簡略化したものである。この解析によって、研究1の結果と同様に、短い時間スケールでは界面のDNAの高さはほとんど変化しないが、長い時間スケールで急に高さが縮むという結果を得た。ループ押し出し後は、ラウス時間で平衡状態の形状に戻るが、コヒーシンのロード時間を短くすると、DNAが緩

和する前に新しいループ押し出し運動が始まるので、DNA の高さが低くなる。そのために、表面付近の DNA 濃度が大きくなるので、表面圧力が大きくなることを理論的に予言した。本研究の結果は、英国 Royal Society of Chemistry が刊行している *Soft Matter* 誌に掲載されている (T. Yamamoto and H. Schiessel, *Soft Matter*, **15**, 7635-7643, 2019)。

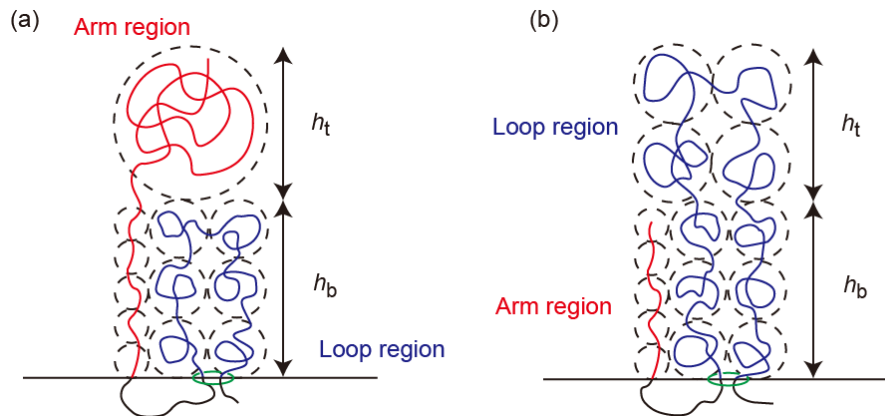


図 4 オンサーガーの変分原理を使った DNA の運動モデル。

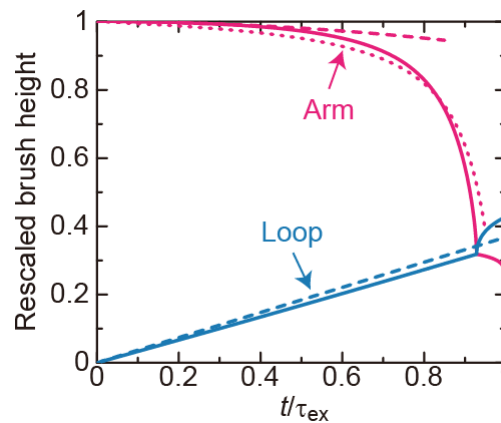


図 5 DNA の高さの時間依存性。DNA の高さは平衡状態の高さ、時間はループ押し出しにかかる時間 τ_{ex} で規格化している。

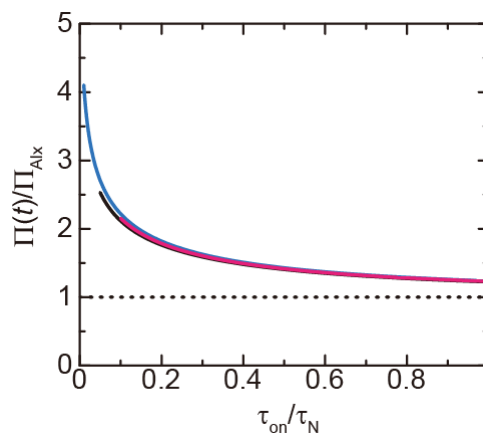


図 6 表面圧力の時間平均のコヒーシンのロード時間依存性。表面圧力は平衡状態での値 Π_{Alx} で、コヒーシンのロード時間 τ_{on} は DNA の緩和時間 τ_N で規格化している。

3) 界面の DNA のループ押し出しによる遺伝子の空間分布の時間発展

転写凝集体にアンカリングされているスーパーエンハンサのターゲット遺伝子が転写凝集体内の転写装置にアクセスする頻度を明らかにするためには、遺伝子のプロモータの空間分布を明らかにする必要がある。ループ押し出し運動を考慮にいて、プロモータとエンハンサの間のリンカの運動を表すスモルコウスキー方程式を拡張した。リンカの運動を扱うためのモデルとし

では、簡単のために、ダンベルモデルを用いた。ループ押し出し開始-終了サイト間ベクトルの二乗平均は、研究 1 と 2 と同様に、短い時間スケールでは二乗平均はほとんど変化しないが、長い時間スケールで急に変わるといった結果を得た。本研究の結果は、Oxford University Press が刊行している *Nucleic Acids Research* 誌に採択が決定している (T. Yamamoto, T. Sakaue, and H. Schiessel, "Slow chromatin dynamics enhances promoter accessibility to transcriptional condensate", *Nucleic Acids Research*, in press)。

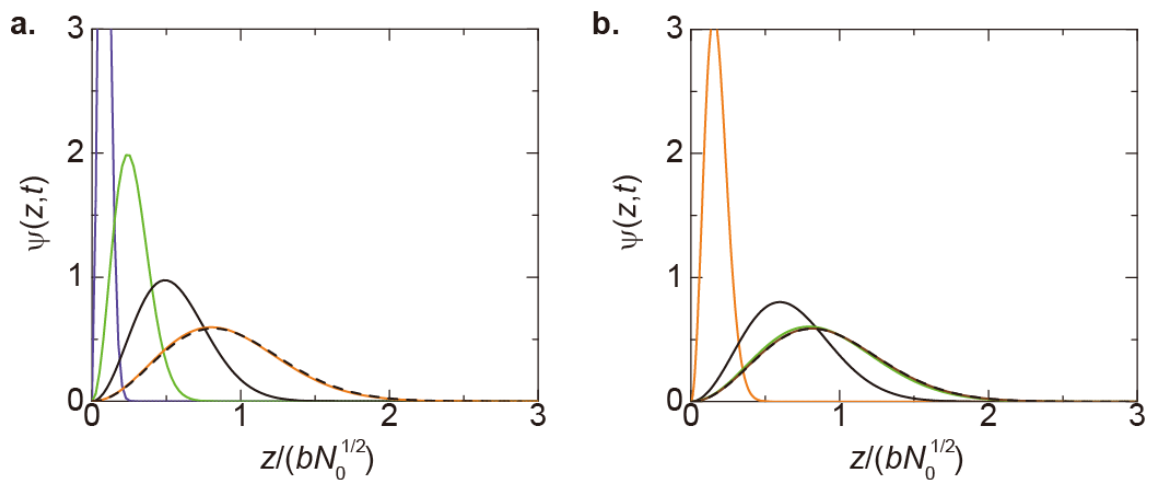


図 7 緩和過程 (左) とループ押し出し過程 (右) の遺伝子の空間分布。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件／うち国際共著 4件／うちオープンアクセス 2件）

| | |
|---|-------------------------|
| 1. 著者名 Tetsuya Yamamoto, Tomohiro Yamazaki, and Tetsuro Hirose | 4. 巻 16 |
| 2. 論文標題 Phase separation driven by production of architectural RNA transcripts | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 Soft Matter | 6. 最初と最後の頁 4692-4698 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1039/C9SM02458A | 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 Tomohiro Yamazaki, Tetsuya Yamamoto, Hyura Yoshino, Sylvie Souquere, Shinichi Nakagawa, Gerard Pierron, and Tetsuro Hirose | 4. 巻 - |
| 2. 論文標題 Paraspeckles are constructed as block copolymer micelles through microphase separation | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 EMBO Journal | 6. 最初と最後の頁 - |
| 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 オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 該当する |

| | |
|---|-----------------|
| 1. 著者名 Tetsuya Yamamoto, Takahiro Sakaue, and Helmut Schiessel | 4. 巻 - |
| 2. 論文標題 Slow chromatin dynamics enhances promoter accessibility to transcriptional condensates | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Nucleic Acids Research | 6. 最初と最後の頁 - |
| 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 該当する |

| | |
|---|---------------------|
| 1. 著者名 Tetsuya Yamamoto, Takahiro Sakaue, and Helmut Schiessel | 4. 巻 127 |
| 2. 論文標題 Loop extrusion drives very different dynamics for Rouse chains in bulk solutions and at interfaces | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 Europhysics Letters | 6. 最初と最後の頁 38002 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1209/0295-5075/127/38002 | 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 該当する |

| | |
|---|-------------------------|
| 1. 著者名 Tetsuya Yamamoto and Helmut Schiessel | 4. 巻 15 |
| 2. 論文標題 Dilution of contact frequency between superenhancers by loop extrusion at interfaces | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 Soft Matter | 6. 最初と最後の頁 7635-7643 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/C9SM01454C | 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 該当する |

| | |
|--|--------------------|
| 1. 著者名 Tetsuya Yamamoto, Yuichi Masubuchi, and Masao Doi | 4. 巻 9 |
| 2. 論文標題 Coil-globule transitions drive discontinuous volume conserving deformation in locally restrained gels | 5. 発行年 2018年 |
| 3. 雑誌名 Nature Communications | 6. 最初と最後の頁 2062 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-018-04533-w | 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4件(うち招待講演 1件/うち国際学会 0件)

| |
|--|
| 1. 発表者名 Tetsuya Yamamoto and Helmut Schiessel |
| 2. 発表標題 Loop extrusion of chromatin at surfaces modulates the growth dynamics of transcriptional condensates. |
| 3. 学会等名 第58回日本生物物理学会年会 |
| 4. 発表年 2020年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Tetsuya Yamamoto, Tomohiro Yamazaki, and Tetsuro Hirose |
| 2. 発表標題 Phase separation driven by the production dynamics of architectural RNA transcripts |
| 3. 学会等名 第43回日本分子生物学会 |
| 4. 発表年 2020年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Tetsuya Yamamoto |
| 2. 発表標題 Transcription dynamics of DNA at interfaces |
| 3. 学会等名 第57回日本生物物理学会年会 (招待講演) |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Tetsuya Yamamoto and Helmut Schiessel |
| 2. 発表標題 Transcription driven phase separation in chromatin brush |
| 3. 学会等名 BDR Simposium 2019, Control and Design of Biosystems |
| 4. 発表年 2019年 |

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

| |
|---|
| https://www.icredd.hokudai.ac.jp/yamamoto-tetsuya |
|---|

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 |
|-------|--|--|------------------------------|
| 研究協力者 | シェッセル ヘルミユート (Schiessel Helmut) | ドレスデン工科大学・Cluster of Excellence Physics of Life・教授 | 2020年に、ライデン大学からドレスデン工科大学に異動。 |

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1件

| | |
|--|--------------------|
| 国際研究集会 Workshop on chromatin biophysics | 開催年 2018年～2018年 |
|--|--------------------|

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 | | | |
|---------|-----------------------------------|--------|--|--|
| ドイツ | Technische Universitat Dresden | | | |
| フランス | CNRS | AMMICA | | |
| オランダ | Leiden University | | | |