

令和 3 年 6 月 16 日現在

機関番号：82502

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K06173

研究課題名(和文)分子動力学シミュレーションによるヌクレオソームの構造変化メカニズム解析

研究課題名(英文) Analysis of conformational change of nucleosome by molecular dynamics simulation

研究代表者

石田 恒 (Ishida, Hisashi)

国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構・量子生命科学領域・上席研究員(定常)

研究者番号：60360418

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：分子動力学シミュレーションを用いた自由エネルギー計算により、染色体セントロメア領域にあるCENP-AヌクレオソームのDNA解離は、通常のヌクレオソームのDNA解離に比べて起こりやすいことがわかった。更に、RNAポリメラーゼが生成するねじれ力を模した力を通常のヌクレオソームDNAの両端に作用させる分子動力学シミュレーションを実施した。その結果、左巻きのねじれの力を加えると、DNAはヒストンから離れやすくなり、逆に右巻きのねじれの力を加えると、DNAはヒストンから離れにくくなった。その原因は、DNA二重らせん構造という幾何学的特性とDNAの物性的特性(柔らかさ、曲がりやすさ)によることがわかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ヌクレオソームのDNAに作用するねじれの力が、ヌクレオソームの大規模な構造変化を引き起こすことがわかった。その分子論的原因は、DNAが右巻きのらせんの形をしている幾何学的特性とDNA固有の物性的特性(柔らかさ、曲がりやすさ)に起因することがわかった。このことはヌクレオソーム構造変化を伴う複雑な遺伝子発現メカニズムが「DNAのらせん構造」と「ねじれの力の向き」といった単純な仕組みによっても調節されている可能性を示している。本研究は、分子動力学シミュレーション法を最大限に活用したヌクレオソームの機能発現メカニズムの解析であり、将来的に遺伝子発現機構の全容解明につながる。

研究成果の概要(英文)：The free energy calculations using molecular dynamics simulations showed that DNA dissociation of CENP-A nucleosomes in the chromosomal centromere region is more likely to occur than that of canonical nucleosomes. Furthermore, a molecular dynamics simulation was performed in which a force imitating the twisting force generated by RNA polymerase was applied to both ends of the canonical nucleosome DNA. The results indicated that when a left-handed twisting force was applied, the DNA was easily dissociated from the histone, and conversely, when a right-handed twisting force was applied, the DNA was difficult to be dissociated from the histone. These were found to be caused by the geometrical property of the DNA double helix structure and the physical characteristics of DNA such as flexibility and bendability.

研究分野：生物物理

キーワード：ヌクレオソーム DNA 構造変化 遺伝子発現 ねじれ 分子動力学シミュレーション 自由エネルギー計算

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

ヒトの場合、全長約2メートルにもなるDNAは、糸巻きの芯のようなヒストンと呼ばれるタンパク質に約2回巻き付いた構造(ヌクレオソーム)をしている。ヌクレオソームは染色体の基本単位であり、ヒストンタンパク質8量体の周りに約150塩基対のDNAが2回巻き付いた構造体である。カノニカルヌクレオソームと呼ばれる通常のヌクレオソームはH2A、H2B、H3、H4の4種のヒストン各2つから構成される。ヌクレオソームに巻き付いたDNAは外的要因(転写関連タンパク質との相互作用など)から遮蔽され、遺伝情報が読み取られることはない。一方、遺伝情報の転写プロセスでは、ヌクレオソームに巻き付いたDNAはヒストンから解離して、外部にむき出しになり、転写関連タンパク質などがDNAに直接的にアクセスできるようになる。

このように細胞核の中では、ヌクレオソームはダイナミックな構造変化を起こしながら、遺伝子発現を調節している。しかし、そのメカニズムは原子レベルではよくわかっていない。本研究では、研究代表者が主体となって開発してきた分子動力学シミュレーションプログラムSCUBAを用いて大規模構造サンプリングを実行し、転写活性状態におけるヌクレオソーム構造変化のメカニズムを原子レベルで明らかにすることを目指した。

2. 研究の目的

(1)ヌクレオソームには通常のヌクレオソーム(H2A、H2B、H3、H4のヒストンとDNAから構成されるカノニカルヌクレオソーム)とヒストンがバリエーションに置き換わったヌクレオソームが存在する。そのひとつ、H3ヒストンがCENP-A(H3ヒストンとアミノ酸相同性を持ち、染色体セントロメアに存在するバリエーションヒストンタンパク質)に入れ替わったCENP-Aヌクレオソームは、染色体分配のときのセントロメア形成に必須で、セントロメア領域に集積するタンパク質群と結合する。カノニカルヌクレオソームとCENP-AヌクレオソームのDNA解離の自由エネルギーを解析することで、カノニカルヌクレオソームとCENP-Aヌクレオソームの動的構造の違いを明らかにする。

(2)ヌクレオソームに巻き付いたDNAに、RNAポリメラーゼが及ぼすねじれストレスを模した左巻きおよび右巻きのねじれの力を作用させることで、ヌクレオソームDNAの解離がどのような影響を受けるのか解析する。DNA解離の自由エネルギー地形とヌクレオソーム内相互作用を原子レベルで解析することにより、ねじれの力が遺伝情報の読み取りにどのように関わっているのか、そのメカニズムを原子レベルで明らかにする。

3. 研究の方法

(1)DNAとCENP-Aヒストンの複合体であるCENP-Aヌクレオソームの系について、DNA解離の自由エネルギー分子動力学シミュレーションを実施した。分子動力学シミュレーションには、研究代表者が主体となって開発した分子動力学シミュレーションプログラムSCUBAを用いた。CENP-Aヌクレオソームの初期構造ではDNAはヒストンに巻き付いているので、DNA解離を促すためにCENP-AヌクレオソームDNAの両端の距離を反応座標に設定したABMD自由エネルギー計算法を用いてDNA解離状態を生成した(図1)。更にアンブレラサンプリングシミュレーションを15ナノ秒にわたり実施し、WHAM法を用いて自由エネルギーを得た。

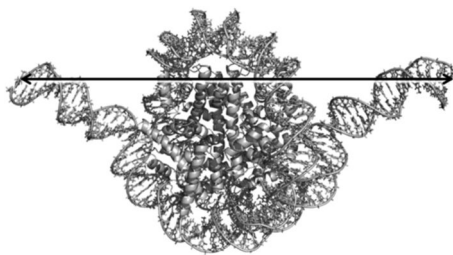


図1：CENP-AヌクレオソームにおけるDNA解離の系

(2)カノニカルヌクレオソームのDNAにねじれが作用した場合のDNA解離の分子動力学シミュレーションを実施した。まず、ABMD自由エネルギー計算法を用いて、約30ナノ秒程度のシミュレーション時間内に反応座標上(64 から 242 まで)をくまなくサンプリングしながら、DNA解離状態を生成した。

次に、ABMD自由エネルギー計算後、RNAポリメラーゼによる遺伝子転写反応の進行の前後を考慮した左巻きのねじれ力、右巻きのねじれ力をDNA両端に作用させた2つの系、ねじれ力を作用させない系の合計3つの系を想定した(図2)。それぞれのねじれストレス下で構造サンプリングシミュレーション(64 から 242 まで2 間隔のDNA両端距離を保つアンブレラサンプリングシミュレーション)を100ナノ秒にわたり実施し、DNA解離の自由エネルギーを得た。

4. 研究成果

(1) CENP-A ナクレオソームの自由エネルギー計算により、CENP-A ナクレオソームの DNA は通常のカノニカルナクレオソームと比べて解離しやすいことがわかった。その原因は、CENP-A ヒストンの N ヘリックスと DNA との相互作用が、カノニカルナクレオソームのもつ H3 ヒストンの N ヘリックスと DNA との相互作用と比べて弱いためであることがわかった(引用文献)。このことから、CENP-A ナクレオソームは通常のカノニカルナクレオソームとくらべて、多様な構造を取りやすく、染色体分配のときにセントロメア領域に集積するタンパク質群と結合しやすくする役割を果たしていると考えられる(引用文献)。

(2) RNA ポリメラーゼを模したねじれの力を DNA に作用させた条件のもと、ヒストンに巻き付いた DNA をヒストンから解離する分子動力学シミュレーションを実行することで、ナクレオソーム構造がどのように変化するかを観測した。

DNA 二重らせんの幾何学的特性の一つとして、DNA がもつ大きな溝と小さな溝の存在がある。DNA 解離の初期段階では、右巻きのねじれの力を加えると、DNA の小さな溝がヒストン H3 と強く相互作用してナクレオソームが安定化することがわかった。また、DNA 解離状態に応じて S0 から S4 の状態に分けられることが分かった(図3)。更に、解離経路には、S0 sAS1 S2 sAS3 S4 を通る DNA 解離の非対称性が小さな経路(一方の DNA の解離の途中で片側の DNA の解離も始まる。図3の赤矢印)と、S0 sAS1 IAS2 sAS3 S4 を通る DNA 解離の非対称性が大きな経路(一方の DNA の解離が終了した後に片側の DNA の解離が始まる。図の青矢印)の2つがあることがわかった。そして、右巻きのねじれ力が作用した場合には、非対称性の小さな経路のみを進むのに対して、左巻きのねじれ力が作用した場合には、非対称性の大きな経路にも進んだ。したがって、左巻きのねじれの力を加えると、DNA はヒストンから離れやすくなり、逆に右巻きのねじれの力を加えると、DNA はヒストンから離れにくくなることがわかった。DNA の物性的特性(柔らかさ、曲がりやすさ)を解析したところ、左巻きのねじれの力を加えるとナクレオソーム内の DNA は二重らせんの巻きがきつくなって直線的になり曲がりにくくなった。逆に右巻きのねじれの力を加えると DNA の巻きがゆるくなって、DNA が柔らかくなることがわかった。

以上から、ねじれの力の向きにより DNA 解離が変化する原因は、DNA のもつ二重らせん構造の幾何学的特性と DNA 固有の物性的特性によることがわかった(引用文献)。

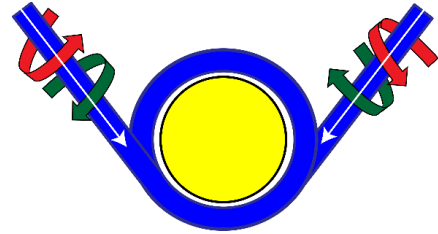


図2: カノニカルナクレオソーム(ヒストンコアを黄色、DNA を青色で表示)にねじれの力を作用させる系: DNA に左巻きのねじれの力(赤色の矢印)または、右巻きのねじれの力(緑色の矢印)を加え、ナクレオソームを含む全ての分子の時々刻々と変化する動きを観測した。

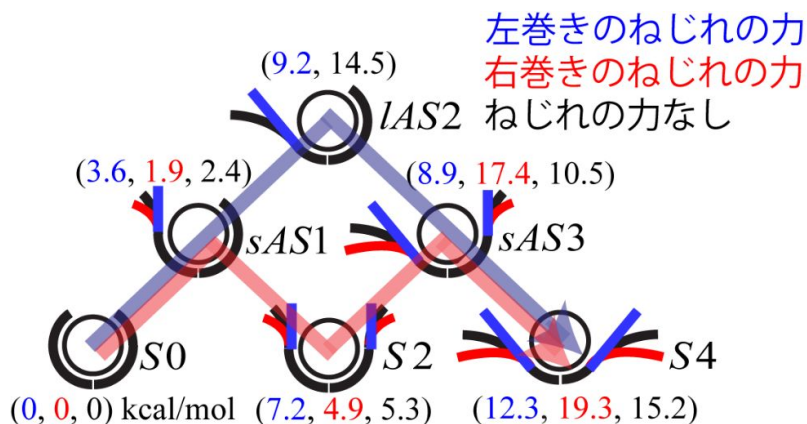


図3: ねじれの力が作用したナクレオソーム DNA の解離状態

左巻きのねじれ力(青色) 右巻きのねじれ力(赤色) ねじれ力なし(黒色)を DNA に作用させたときのナクレオソーム構造と自由エネルギー値(括弧内の数値)を示す。DNA 解離の過程では様々な状態が見つかった(S0: DNA がヒストンに強く巻き付いている(結晶構造でよく観測される状態)、sAS1: DNA の一端がヒストン H3 から解離した状態、IAS2: DNA の一端がヒストン H3、H2A/H2B から解離した状態、S2: DNA の両端がヒストン H3 から解離した状態、sAS3: DNA の一端がヒストン H3、H2A/H2B から解離し、DNA の反対の端がヒストン H3 から解離した状態、S4: DNA の両端がヒストン H2A/H2B から解離した状態)。

右巻きのねじれの力により、DNA 解離の非対称性は小さくなり(赤矢印)、左巻きのねじれの力により、DNA 解離の非対称性が大きくなる(青矢印)。

(3) DNAは細胞核内において、周りの分子との相互作用で、引っ張られたりねじられたり、様々な力を受けている。本研究(引用文献)では、この力のうち、ねじれの力とその向きに注目した。そしてDNAにねじれの力の向きにより、遺伝子発現のON/OFFスイッチが変わる可能性を示した。このような構造変化は、DNAが右巻きのらせんの形をしているという、DNA自体の構造に起因すると考えられる。このことは複雑な遺伝子発現のメカニズムが「DNAのらせん構造」と「ねじれの力の向き」といった単純な仕組みによっても調節されている可能性を示す興味深い結果である(引用文献)。

以上、本科研費研究では、分子動力学シミュレーション法を最大限活用したヌクレオソーム機能発現メカニズム解析を実施し、ヌクレオソーム構造変化メカニズムの一端を原子レベルで明らかにした。

<引用文献>

- Hidetoshi Kono, Shun Sakuraba and Hisashi Ishida, Free energy profiles for unwrapping outer superhelical turn of CENP-A nucleosome, *Biophys. Physicobiol.* **16**, 337-343(2019), DOI: 10.2142/biophysico.16.0_337
- Hidetoshi Kono and Hisashi Ishida, Nucleosome unwrapping and unstacking, *Curr. Opin. Struct. Biol.* **64**, 119-125 (2020), DOI: 10.1016/j.sbi.2020.06.020
- Hisashi Ishida and Hidetoshi Kono, Torsional stress can regulate the unwrapping of two outer half superhelical turns of nucleosomal DNA, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **118**, e2020452118 (2021), DOI: 10.1073/pnas.2020452118
- プレス発表: 遺伝子発現のカギはDNAのねじれ方 - ヌクレオソームの全原子の挙動を計算、DNAの性質を明らかに - 石田 恒, 河野 秀俊
<https://www.qst.go.jp/site/press/20210209.html>

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Kono Hidetoshi, Sakuraba Shun, Ishida Hisashi	4. 巻 16
2. 論文標題 Free energy profile for unwrapping outer superhelical turn of CENP-A nucleosome	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biophysics and Physicobiology	6. 最初と最後の頁 337 ~ 343
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2142/biophysico.16.0_337	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 -

1. 著者名 Hidetoshi Kono and Hisashi Ishida	4. 巻 64
2. 論文標題 Nucleosome unwrapping and unstacking	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Current Opinion in Structural Biology	6. 最初と最後の頁 119-125
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.sbi.2020.06.020	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 -

1. 著者名 Hisashi Ishida and Hidetoshi Kono	4. 巻 118
2. 論文標題 Torsional stress can regulate the unwrapping of two outer half superhelical turns of nucleosomal DNA	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Proc. Natl. Acad. Sci. USA.	6. 最初と最後の頁 e2020452118
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.2020452118	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 -

〔学会発表〕 計9件（うち招待講演 2件/うち国際学会 2件）

1. 発表者名 角南 智子, ルオ ディ, 石田 恒, 河野 秀俊
2. 発表標題 Sequence dependence of nucleosomal DNA unwrapping
3. 学会等名 第3回 Dynamic Structural Biology 研究成果報告会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hisashi Ishida, Hidetoshi Kono
2. 発表標題 Positive torsional stress on DNA enhances unwrapping of nucleosomal DNA
3. 学会等名 Biophysical Society Annual Meeting 2020 (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 石田 恒
2. 発表標題 分子シミュレーションによるヌクレオソーム構造変化の網羅的探索 ヌクレオソームのH2A/H2B脱離メカニズム解析
3. 学会等名 第6回「京」を中核とする HPCI システム利用研究課題 成果報告会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hisashi Ishida, Hidetoshi Kono
2. 発表標題 Free energy profile of eviction of H2A/H2B dimer from nucleosome
3. 学会等名 3rd QST International Symposium
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hidetoshi Kono, Atsushi Matsumoto, Shun Sakuraba, Hisashi Ishida
2. 発表標題 Integrated approach of experimental data and computer modeling and simulation for understanding chromatin structure and dynamics
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 河野 秀俊, ルオ ディ, 石田 恒
2. 発表標題 ヌクレオソームの崩壊と転写
3. 学会等名 第19回日本蛋白質科学会年会・第71回日本細胞生物学会大会 合同年次大会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hisashi Ishida, Hidetoshi Kono
2. 発表標題 Free energy profiles for unwrapping the outer superhelical turn of nucleosomal DNA under torsional stress
3. 学会等名 Multiscale Modeling of Chromatin: Bridging Experiment with Theory (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 石田恒
2. 発表標題 分子シミュレーションによるヌクレオソーム構造変化の網羅的探索
3. 学会等名 第7回「京」を中核とするHPCIシステム利用研究課題 成果報告会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 石田恒
2. 発表標題 全原子分子動力学シミュレーションを用いた、ヌクレオソーム安定性に対するねじれストレス影響の解析
3. 学会等名 量子生命科学会第2回大会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

プレス発表：遺伝子発現のカギはDNAのねじれ方 - ヌクレオソームの全原子の挙動を計算、DNAの性質を明らかに -
石田 恒, 河野 秀俊
<https://www.qst.go.jp/site/press/20210209.html>

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
---------	---------