

令和 4 年 5 月 31 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2021

課題番号：18K14620

研究課題名(和文) 初期胚におけるクロマチン3次元構造確立メカニズムの解明

研究課題名(英文) Establishment mechanism of 3D chromatin structure

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)：染色体は受精直後、リプログラミングを受け、精子と卵子のクロマチン修飾が分化多能性を制御するパターンへと変化する。この過程において、ゲノムの3次元構造も大規模に変化するが、その分子メカニズムは不明である。ゲノムの3次元構造の制御においてはコヒーシンやCTCFといった因子が中心的な役割を果たしていると考えられているが、受精卵におけるこれらの因子の動態は、細胞数の少なさなどの技術的な問題から解析されていない。本研究では、メダカの初期胚においてCTCFのクロマチン上の動態を解析した。その結果、CTCFは3次元構造が確立する前からクロマチン上に特異的に結合していることを発見した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

クロマチンのリプログラミングは、発生の最も初期に起こる分化多能性を確立する上で重要なプロセスである。この過程においてDNAメチル化やヒストン修飾などと共にゲノムの3次元構造も大きく変化するが、その分子メカニズムは不明である。特に、ゲノム3次元構造は転写制御に大きく関与していると考えられており、本研究で得られた初期胚におけるCTCFの動態解析の結果は、発生過程における遺伝子発現制御機構を理解する上で必要不可欠である。さらに、リプログラミングを制御する分子メカニズムの理解は再生医療などへの応用も期待される。

研究成果の概要(英文)：Immediately after fertilization, chromosomes undergo reprogramming, resetting the chromatin modifications of sperms and oocytes into patterns that control totipotency. During this process, three-dimensional structure of the genome also dramatically changes, but the molecular mechanisms involved are unknown. Factors such as cohesin and CTCF are thought to play a central role in the regulation of the three-dimensional structure of the genome, but the dynamics of these factors in fertilized eggs have not been analyzed due to technical problems such as low cell numbers. In this study, we analyzed the dynamics of CTCF binding on chromatin in early embryos of medaka fish. As a result, we found that CTCF is specifically bound on chromatin even before its three-dimensional structure is established.

研究分野：エビジェネティクス

キーワード：クロマチン3次元構造 発生 リプログラミング

1. 研究開始当初の背景

染色体は受精直後、リプログラミングを受け、精子と卵子のクロマチン修飾が分化多能性を制御するパターンへと変化し、遺伝子の転写が開始される。この過程において、ゲノムの3次元構造も大規模に変化することが近年明らかにされつつあるが、その分子メカニズムは不明である。ゲノムの3次元構造の制御においてはコヒーシンやCTCFといった因子が中心的な役割を果たしていると考えられているが、受精卵におけるこれらの因子の動態は、細胞数の少なさなどの技術的な問題から解析されていなかった。

2. 研究の目的

本研究では、リプログラミング過程の細胞を大量に得られるメダカ胚を用いることで、コヒーシンとCTCFの動態を解析し、ゲノム3次元構造への寄与を検証する。これにより、遺伝子発現制御の基盤となるゲノムの3次元構造が、動物の発生において最初にできあがる時のメカニズムを解明する。

3. 研究の方法

メダカ受精卵におけるCTCFの結合動態をChIP-seqにより明らかにする。また、3次元構造動態が生物種間でどの程度保存されているのか、検証する。

4. 研究成果

(1) メダカの初期胚においてCTCFのChIP-seqを行い、クロマチン上の動態を解析した。その結果、CTCFは3次元構造が確立する前からクロマチン上に特異的に結合していることを発見した(図1)。したがって、クロマチン3次元構造の変化は、CTCFタンパクの結合の変化によって制御されていないことが明らかになった。

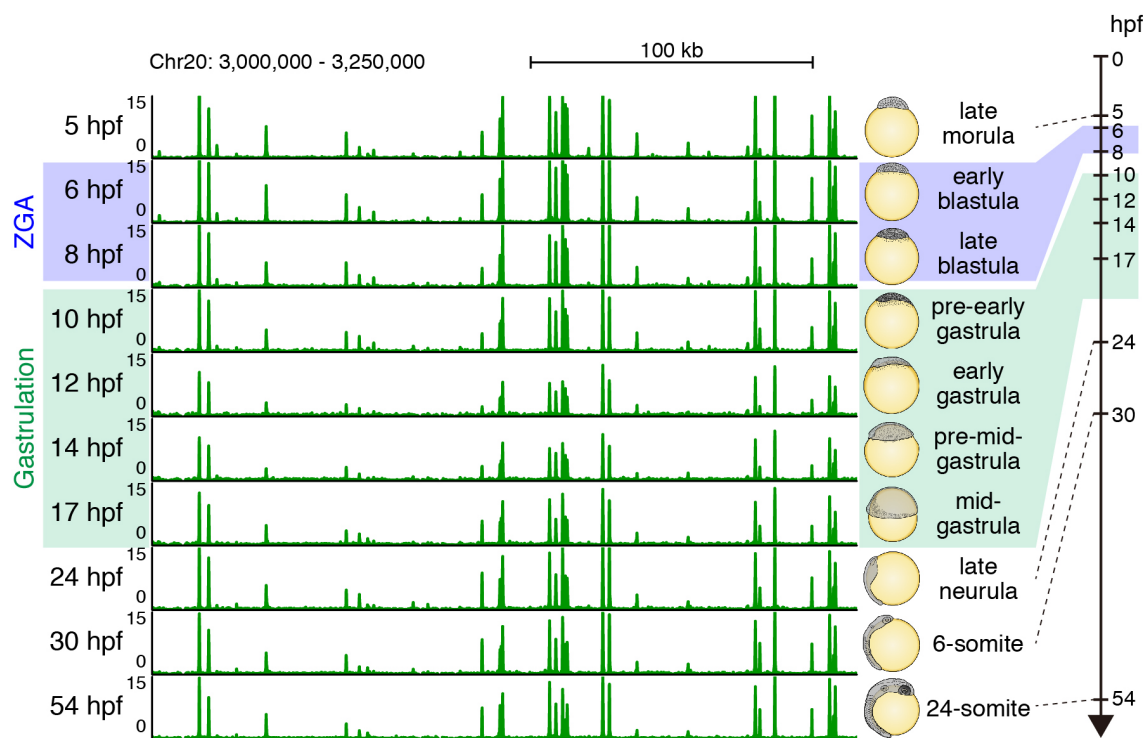


図1. メダカ初期胚におけるCTCFの結合動態。
メダカ発生過程の各段階において抗CTCF抗体を用いてChIP-seqを行った。その結果、CTCFはクロマチン3次元構造が確立する胞胚期(8 hpf)～原腸形成期(10-17 hpf)よりも前からクロマチン上に結合し、その結合位置も変化していなかった。

(2) メダカではクロマチン3次元構造の一つであるループ構造は原腸形成期に確立される。これが生物種間で保存されているかどうかを検証するために、ゼブラフィッシュにおいてもクロマチン3次元構造の動態を解析した。その結果、ゼブラフィッシュにおいてもループ構造は原腸形成期以降に形成されることが明らかになった (図2A, B)。さらに、ループ構造はメダカとゼブラフィッシュのシンテニー領域で非常によく保存されていることも明らかになった (図2C)。

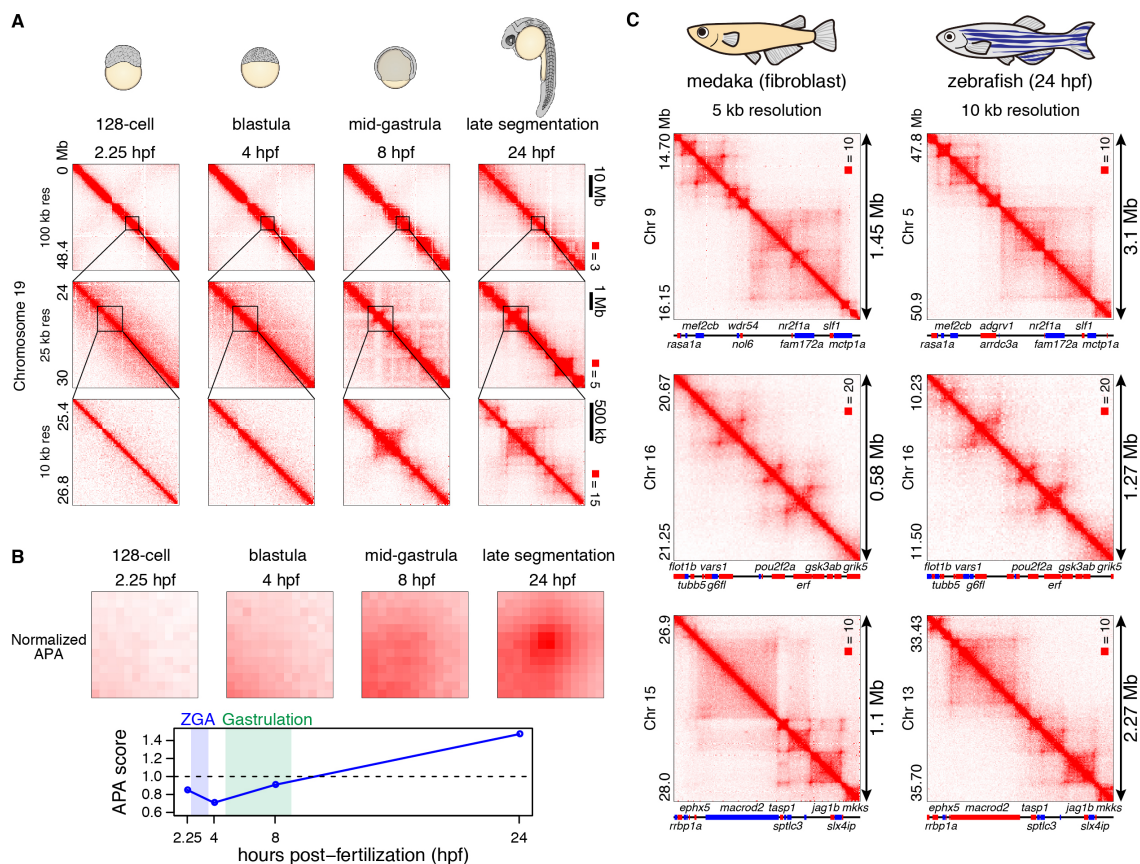


図2. ゼブラフィッシュ初期胚におけるクロマチン3次元構造動態とメダカとの構造比較。
 (A) ゼブラフィッシュ各発生段階におけるクロマチン3次元構造。
 (B) ゼブラフィッシュ各発生段階におけるループ構造の強度。
 (C) メダカとゼブラフィッシュのシンテニー領域におけるクロマチン3次元構造パターンの比較。

5. 主な発表論文等

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

1. 著者名 Nakamura Ryohei, Motai Yuichi, Kumagai Masahiko, Wike Candice L., Nishiyama Haruyo, Nakatani Yoichiro, Durand Neva C., Kondo Kaori, Kondo Takashi, Tsukahara Tatsuya, Shimada Atsuko, Cairns Bradley R., Aiden Erez Lieberman, Morishita Shinichi, Takeda Hiroyuki	4. 巻 31
2. 論文標題 CTCF looping is established during gastrulation in medaka embryos	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Genome Research	6. 最初と最後の頁 968 ~ 980
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1101/gr.269951.120	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 Wike Candice L., Guo Yixuan, Tan Mengyao, Nakamura Ryohei, Shaw Dana Klatt, D?az Noelia, Whittaker-Tademy Aneasha F., Durand Neva C., Aiden Erez Lieberman, Vaquerizas Juan M., Grunwald David, Takeda Hiroyuki, Cairns Bradley R.	4. 巻 31
2. 論文標題 Chromatin architecture transitions from zebrafish sperm through early embryogenesis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Genome Research	6. 最初と最後の頁 981 ~ 994
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1101/gr.269860.120	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 Satou Yutaka, Nakamura Ryohei, Yu Deli, Yoshida Reiko, Hamada Mayuko, Fujie Manabu, Hisata Kanako, Takeda Hiroyuki, Satoh Noriyuki	4. 巻 11
2. 論文標題 A Nearly Complete Genome of <i>Ciona intestinalis</i> Type A (<i>C. ?robusta</i>) Reveals the Contribution of Inversion to Chromosomal Evolution in the Genus <i>Ciona</i>	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Genome Biology and Evolution	6. 最初と最後の頁 3144 ~ 3157
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/gbe/evz228	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 Fukushima Hiroto S., Takeda Hiroyuki, Nakamura Ryohei	4. 巻 12
2. 論文標題 Targeted in vivo epigenome editing of H3K27me3	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Epigenetics & Chromatin	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) 10.1186/s13072-019-0263-z	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1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Ryohei Nakamura
2. 発表標題 Establishment of the three-dimensional genome structure during medaka fish development
3. 学会等名 Keystone Symposia, 3D Genome: Gene Regulation and Disease (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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