

令和 6 年 4 月 9 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K03479

研究課題名（和文）エンハンサによる転写凝集体の形成と転写制御の物理

研究課題名（英文）Physics of transcription regulation by the assembly of transcriptional condensate and the transcription of enhancer sequence

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） 2,400,000円

研究成果の概要（和文）：分裂酵母の構成的ヘテロクロマチンは、RNA干渉経路によって形成される。最近の実験によって、リピートされた遺伝子がヘテロクロマチン化される傾向があることが示された。本研究では、リピートされた遺伝子がDNA上で「つながっている」ことに注目し、高分子の表面吸着のエッセンスをRNA干渉経路の速度方程式に組み込むことによって、分裂酵母のヘテロクロマチン形成機構を明らかにするための理論を構築した。本研究によって、リピートの数だけでなく、各遺伝子の長さもヘテロクロマチン形成に重要な因子であることを明らかにした。本研究は、ヘテロクロマチンの形成機構とリピート配列の生物物理学意義を発見した点で重要である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、リピート配列の生物物理学的意義と相分離以外のヘテロクロマチン形成機構を明らかにした点で重要である。RNA干渉経路のようなシステム生物学的アプローチが適当な系に、遺伝子の連結性という構造的要素を加えて融合した点も新しい。本研究は、pRNA経路などの小分子RNAの生成によってヘテロクロマチンが形成される系だけでなく、リボソームDNA、ヒストン遺伝子、スーパーエンハンサなどのリピート配列（または、同じ機能配列が連結した領域）と核内構造体との相互作用を明らかにする研究に拡張することができる。

研究成果の概要（英文）：Heterochromatin in fission yeasts is assembled by RNAi pathway. Recent experiments have shown that tandemly repeated genes are favorable substrates for RNAi-mediated heterochromatin (repeat induced RNAi). The connectivity of these repeated genes implies that polymer physics is useful to understand the repeat induced RNAi. In this research, we have taken into account the essence of the surface adhesion of polymers in an extension of the kinetic equations of RNAi pathway to predict the mechanism of repeat induced RNAi. We have shown that not only the number of genes in the tandem repeat, but also the length of each gene are critical factors that determine the assembly of heterochromatin. This research has revealed one of the biophysical functions of repeated genes.

研究分野：遺伝子制御の物理

キーワード：ヘテロクロマチン リピート配列 RNA干渉経路 転写 高分子の表面吸着

1. 研究開始当初の背景

エンハンサは標的遺伝子の転写を活性化させる制御配列であり、転写活性化に必要な転写因子の結合サイトとなっている。エンハンサが高密度に集積された領域であるスーパーエンハンサは、転写因子やメディエータが凝集して形成される転写因子の表面に局在化することが示唆されている (Sabari et al. *Science*, 2018)。転写凝集体の構成因子がスーパーエンハンサに固定されること (Shrinivas et al., *Cell*, 2019)、転写凝集体を人工的に生成すると、その付近の遺伝子が活性化すること (Wei et al., *Nat. Cell Biol.*, 2020)、スーパーエンハンサは転写凝集体の核生成中心となり、標的遺伝子をアンカリングすることが転写活性化の機構であると考えられる。転写凝集体は液液相分離によって形成されると示唆されているが、その真偽や詳細な物理は不明であった。

2. 研究の目的

研究開始当初の目的は、スーパーエンハンサが転写凝集体を形成する機構とスーパーエンハンサの標的遺伝子の転写ダイナミクスを明らかにする物理理論を構築することであった。スーパーエンハンサ領域ではエンハンサが「つながって」いるため、つながった同じ配列 (または同じ機能配列) が従う法則を明らかにする必要がある。共同研究者の村上洋太教授と浅沼高寛研究员 (ともに北大) は、分裂酵母では、同じ遺伝子が連結した配列 (繰り返し配列) がヘテロクロマチン化されやすいことを発見した。そこで、実験結果を基礎として、繰り返し配列の従う法則を明らかにするために、分裂酵母のヘテロクロマチン形成の機構を明らかにすることに目的を変更し、まずこの問題に取り組むことにした。

3. 研究の方法

RNA 干渉経路の主要なプロセスである、1) 新生 RNA と RDRC/Dicer との結合、2) 小分子 RNA の生成、3) 小分子 RNA の拡散、4) ヒストンのメチル化の速度方程式を導いた (図 1)。小分子 RNA の前駆体となる新生 RNA の生成にも、ヒストンのメチル化にも転写が必要であることを考慮に入れた。定常状態についてこれらの速度方程式を解くことによって、ヒストンのメチル化と小分子 RNA の生成速度を理論的に予言した。繰り返し配列では、同じ遺伝子配列が「つながって」いるため、高分子物理のアプローチが有用である。RDRC/Dicer は核膜表面に局在化していることが示唆されているため、高分子の表面吸着のエッセンスを新生 RNA と RDRC/Dicer との結合 (プロセス 1)) を表す速度方程式に導入した。リピート配列を理想鎖として扱うモデル (理想鎖モデル) と、Swi6/HP1 によって凝集するモデル (コイルーグロビュール転移モデル) の両方を扱った。

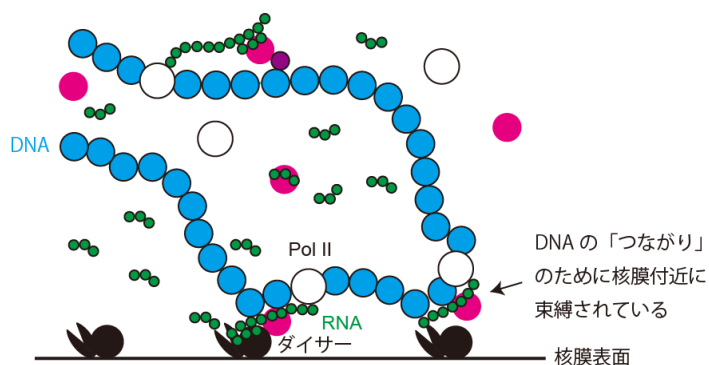


図 1 RNA 干渉経路とヘテロクロマチン形成のジオメトリー

4. 研究成果

① 遺伝子の長さやリピート数がヘテロクロマチン形成に重要な因子

高分子の表面吸着の問題では、その繰り返し単位であるモノマーの解離レートを小さくすると、モノマーの表面への結合率が連続的に大きくなる。リピートされた遺伝子の場合には、リピート数が小さい時には、転写伸長時間を小さくすると、遺伝子の RDRC/Dicer への結合確率 p が連続的に大きくなる (図 1 a シアン線)。一方、リピート数が大きい時には、遺伝子の RDRC/Dicer への結合確率がある転写伸長時間でジャンプすることが分かった (図 1 a マゼンタ線)。 p は結合数

のゆらぎを考慮に入れていない量である。ゆらぎを考慮に入れて、小分子 RNA の生成レートを計算すると、リピート数が大きい方が安定して（定常的に）小分子 RNA を生成できることが明らかとなった。

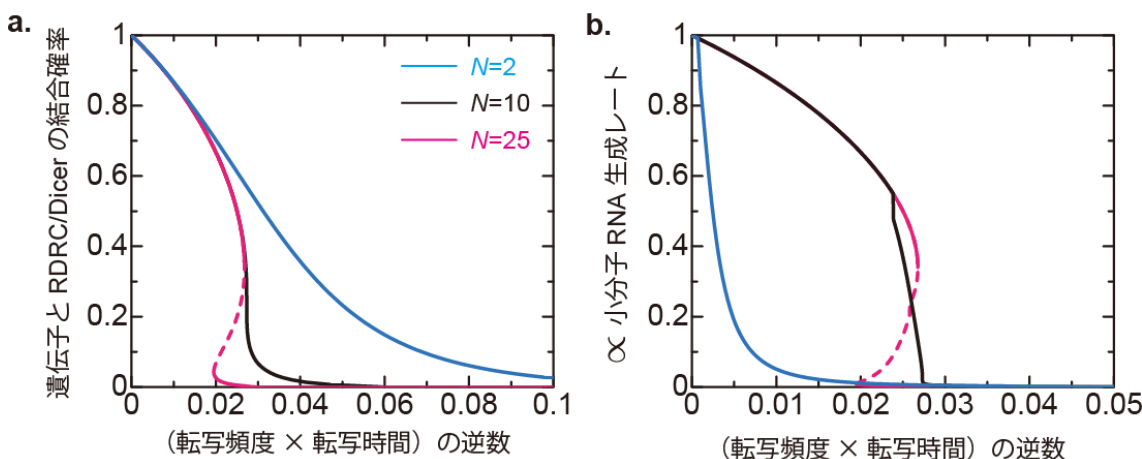


図2 リピート中の遺伝子と RDRD/Dicer の結合確率 **(a)** と小分子 RNA 生成レート **(b)** を、転写時間の逆数の関数として示した。遺伝子のリピート数が 2 (シアン)、10 (黒)、25 (マゼンタ) の場合を示した。

② Epe1 の脱メチル化酵素としての機能がヘテロクロマチン形成に重要な役割を果たす

分裂酵母で唯一の脱メチル化酵素であり、転写因子でもある Epe1 が減少すると、リピート数の小さい遺伝子はヘテロクロマチン化しやすくなり、リピート数の大きい遺伝子はヘテロクロマチン化しにくくなるのが、共同研究者の村上グループによって実験的に示されている。私たちは、まず、Epe1 の脱メチル化酵素としての寄与のみを考慮に入れ、本研究で構築したコイルグロブールモデルを用いて（つまり、凝集機構を考慮に入れて）その機構を調べた。RNA 干渉経路でヘテロクロマチン化が起こるためには、（逆説的であるが）転写頻度が（ある程度）高くなくてはならない。リピート数が大きい場合には、Epe1 が減少すると、リピート領域のヒストンのメチル化の度合いが大きくなるので、リピートが凝集して RNA ポリメラーゼ II (Pol II) がリピート領域から排除されるために転写頻度が減少することが、ヘテロクロマチン化しにくくなる原因であることが明らかとなった。一方、リピート数が小さい時には、Epe1 が減少すると、遺伝子が結合していない場合のメチル化の度合いが大きくなるため、遺伝子と RDRD/Dicer との結合確率が大きくなるのが、ヘテロクロマチン化しやすくなる原因であることが明らかとなった。次に、理想鎖モデルを用いて（つまり、凝集機構を無視して）、Epe1 の脱メチル化酵素としての性質と転写因子としての性質の両方を考慮に入れて、Epe1 の寄与を理論的に解析した。Epe1 の転写因子としての性質のみを考慮に入れると、Epe1 が減少した時に、リピート数が大きい遺伝子のヒストンのメチル化の度合いが小さくなるという実験結果と矛盾する結果を得た。Epe1 の転写因子としての機能がヘテロクロマチン形成にどのように寄与するかということは本研究では結論を出すことができなかったが、脱メチル化酵素としての機能は、ヘテロクロマチン形成に重要な役割を果たすことが明らかになった。

本研究の結果は、Communications Biology 誌に掲載され (T. Yamamoto, T. Asanuma, and Y. Murakami, "Polymeric nature of tandemly repeated genes enhances assembly of constitutive heterochromatin in fission yeast", Communications Biology, **6**, 796 (2023))、プレスリリースも行った（「繰り返し配列の「つながり」がヘテロクロマチン形成を誘導～分子生物学とソフトマター物理学の融合研究でヘテロクロマチン形成の謎に迫る～」、<https://www.hokudai.ac.jp/news/2023/08/post-1276.html>）。当初目的であったエンハンサ機能に関しては、研究期間中に転写の時間分解測定などの新しい実験結果が発表されてきたので、それを基礎として新しく計画を練り直して実施している。スーパーエンハンサは転写凝集体の表面に局在化するため、本研究で得た知見が役に立っている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Tetsuya Yamamoto and Helmut Schiessel	4. 巻 121
2. 論文標題 Loop extrusion driven volume phase transition of entangled chromosomes	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biophysical Journal	6. 最初と最後の頁 2742-2750
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bpj.2022.06.014	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 Tomohiro Yamazaki	4. 巻 2509
2. 論文標題 Statistical Thermodynamics Approach for Intracellular Phase Separation	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Methods Mol. Biol.	6. 最初と最後の頁 361-393
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-1-0716-2380-0_22.	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 Tetsuya Yamamoto, Tomohiro Yamazaki, and Tetsuro Hirose	4. 巻 9
2. 論文標題 Triblock copolymer micelle model of spherical paraspeckles	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Front. Mol. Biosci.	6. 最初と最後の頁 925058
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fmolb.2022.925058	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 Tomohiro Yamazaki, Tetsuya Yamamoto, and Tetsuro Hirose	4. 巻 9
2. 論文標題 Micellization: A new principle in the formation of biomolecular condensates	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Front. Mol. Biosci.	6. 最初と最後の頁 974772
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fmolb.2022.974772	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 Tetsuya Yamamoto and Wei Li	4. 巻 46
2. 論文標題 Polymer brush inspired by ribosomal RNA transcription	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 The European Physical Journal E	6. 最初と最後の頁 61
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1140/epje/s10189-023-00323-5	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 Tetsuya Yamamoto, Takahiro Asanuma, Yota Murakami	4. 巻 6
2. 論文標題 Polymeric nature of tandemly repeated genes enhances assembly of constitutive heterochromatin in fission yeast	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Communications Biology	6. 最初と最後の頁 796
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s42003-023-05154-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 -

1. 著者名 Tetsuya Yamamoto, Kazuhisa Kinoshita, Tatsuya Hirano	4. 巻 122
2. 論文標題 Elasticity control of entangled chromosomes: Crosstalk between condensin complexes and nucleosomes	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Biophysical Journal	6. 最初と最後の頁 3869 ~ 3881
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bpj.2023.08.006	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 Tetsuya Yamamoto, Tomohiro Yamazaki, Kensuke Ninomiya, Tetsuro Hirose	4. 巻 6
2. 論文標題 Nascent ribosomal RNA act as surfactant that suppresses growth of fibrillar centers in nucleolus	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Communications Biology	6. 最初と最後の頁 1129
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s42003-023-05519-1	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9件（うち招待講演 4件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Tetsuya Yamamoto
2. 発表標題 Physics gene regulation
3. 学会等名 ゲノムモデリング研究会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Tetsuya Yamamoto
2. 発表標題 Physics of structural formation of entangled chromosomes
3. 学会等名 第74回細胞生物学会年会シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Tetsuya Yamamoto, Takahiro Asanuma, and Yota Murakami
2. 発表標題 Essence of assembly of constitutive heterochromatin in fission yeast lies in surface adhesion of polymers?
3. 学会等名 第60回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Tetsuya Yamamoto, Takahiro Asanuma, and Yota Murakami
2. 発表標題 Essence of assembly of constitutive heterochromatin in fission yeast lies in surface adhesion of polymers?
3. 学会等名 第45回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Tetsuya Yamamoto, Kazuhisa Kinoshita, and Tatsuya Hirano
2. 発表標題 ヌクレオソームとコンデンシンのクロストークを介した絡み合った染色体の弾性制御
3. 学会等名 第40回染色体ワークショップ・第21回核ダイナミクス研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 山本哲也
2. 発表標題 転写凝集体に局在化しているスーパーエンハンサの転写制御機構
3. 学会等名 生物物理学会ゲノム生物物理学サブグループキックオフミーティング (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Tetsuya Yamamoto
2. 発表標題 Regulation of nuclear bodies by transcription
3. 学会等名 The 30th Hot Spring Harbor Symposium (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Tetsuya Yamamoto, Takahiro Sakaue, and Helmut Schiessel
2. 発表標題 Roles of loop extrusion process in transcription dynamics of target genes of superenhancers
3. 学会等名 第59回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Tetsuya Yamamoto, Takahiro Sakaue, and Helmut Schiessel
2. 発表標題 Transcription dynamics of target genes of superenhancers
3. 学会等名 第44回日本分子生物学会
4. 発表年 2021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		
ドイツ	TU Dresden		