

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 27 年 4 月 26 日現在

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(A)

研究期間：2012～2014

課題番号：24244068

研究課題名(和文) 真核細胞の遺伝子スイッチの揺らぎと制御の理論

研究課題名(英文) Theories of fluctuation and regulation of eukaryotic gene switches

研究代表者

笹井 理生 (SASAI, Masaki)

名古屋大学・工学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：30178628

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 29,500,000円

研究成果の概要(和文)：真核細胞の遺伝子発現の原理を理論的に研究した。遺伝子発現の統計力学モデルを展開し、確率流を渦として表現する理論を開発して、多段階の非断熱揺らぎを含む超非断熱揺らぎの重要性を示した。ゲノム分子動力学を開発し、出芽酵母の遺伝子活性と遺伝子の核内空間配置分布との相関を示す結果を得たほか、ヒトにおけるゲノム分子動力学の方法論を開発した。胚性幹細胞の遺伝子発現パターンの揺らぎと遷移を分析して、平均場理論、数値計算により超非断熱揺らぎの効果を解析し、断熱近似を適用した際には存在しない豊富な種類の細胞状態間遷移経路の存在の示唆を得て、計算と理論を比較する枠組みを示した。

研究成果の概要(英文)：Principles of eukaryotic gene expression were studied theoretically by developing statistical mechanical and computational models of gene expression. By using a statistical mechanical model, stochastic behavior of genes was analyzed with the "eddy" current representation of probability flow, and importance of multiple stages of non-adiabatic fluctuations, i.e., super-non-adiabatic fluctuations, was shown. Methods of genome-scale simulation of chromosome structure and movement (genome-MD) were developed and applied to budding yeast and human nuclei. Genome-MD revealed correlation between spatial distribution and transcriptional activity of genes in budding yeast nucleus. Fluctuations and transitions in expression dynamics of embryonic stem cells were examined theoretically and effects of super-non-adiabatic fluctuations were analyzed.

研究分野：理論生物物理学

キーワード：ゲノム分子動力学 遺伝子スイッチの非断熱揺らぎ 遺伝子制御ネットワーク理論 クロマチン構造

## 1. 研究開始当初の背景

(1) 設計した遺伝子回路を大腸菌に組み込み、その活動を定量的に測定する研究が行われて以来(Gardner et al., Nature 2000 など)、工学・物理学の発想で遺伝子を理解しようとする分野が大きく成長した。そこで明らかになったのは、遺伝子発現のレベルが大きく確率的に揺らぐことであったが(Elowitz et al., Science 2002)、これは細胞がメソスコピック系であり細胞内の分子数が小さいことを考えれば当然のことであった。大きな揺らぎにもかかわらず何故、細胞の機能は安定に保たれるのか？あるいは細胞は揺らぎを積極的に利用しているのか？という問題を巡って多くの物理学者の取り組みがあったが、これまでは、大腸菌など単純な原核生物が対象とされることが多かった。真核生物、さらに哺乳類における遺伝子発現のモデル化と定量的測定を合わせた新しい分野が展開されようとしているが、真核生物ではクロマチンの構造、化学修飾とその調節が重要な役割を果たし、原核生物とは大きく異なるダイナミクスが問題となるはずである。しかし、これまでの理論はこの問題を回避して遺伝子発現の静的側面を扱うことが多く、基本問題は手つかずのまま残されてきた。

(2) 研究代表者はこれまで、統計物理学の観点から確率的遺伝子発現の問題をとりあげ、揺らぎを扱う理論的な方法を開発してきたが(PNAS 2003, Biophys. J. 2005)、その中で遺伝子の状態変化速度が蛋白質の個数変化速度より遅い場合には、特徴的な大きな揺らぎが現れることを明らかにし、これを非断熱揺らぎと呼んだ(Chem. Phys. Lett. 2006, J. Chem. Phys. 2007)。原核細胞では遺伝子の状態変化が充分速いと考える断熱近似が有効であるが、クロマチンの遅い状態変化を伴う真核細胞ではまさに、この非断熱揺らぎが問題となるはずである。本研究ではこれまでの成果を土台に、非断熱的な遺伝子発現の統計物理とクロマチンの動的構造、ゲノム立体構造を結ぶマルチスケールの理論的方法を構築し、真核細胞における遺伝子発現の大きな揺らぎの機構と生理機能を明らかにする。

## 2. 研究の目的

(1) 遺伝子発現の確率過程を表す統計物理モデルを発展させ、DNAの状態変化が遅い場合の非断熱揺らぎを確率流の渦と捉える、物理的に理解しやすい描像を発展させる。経路積分で表現した確率流の渦と確率シミュレーションを比較して、非断熱揺らぎの物理を明らかにする。さらに、(転写因子の結合解離の時間)  $\ll$  (DNA ループ形成の時間)  $\ll$  (クロマチン修飾に要する時間) という3段階の時間スケールが共存する超非断熱揺らぎについて、理論と計算による考察を進め、基礎概念を浮き彫りにする。

(2) DNA ループ形成、およびヘテロクロマチン領域の伸長と短縮について、クロマチン構造ダイナミクスのモデルを構築し、転写因子がクロマチン構造を変え、クロマチン構造の変化が転写因子の発現を変えするというフィードバックダイナミクスを解析して、構造変化の協同性が遺伝子発現ダイナミクスに与える影響を明らかにする。

(3) 大規模なゲノム動力学計算(ゲノム MD)を展開し、出芽酵母の核内ゲノムの立体構造が動的に大きく揺らぐ過程をシミュレートする。ゲノム構造ダイナミクスの計算結果を *in situ* 蛍光測定や制限酵素を用いた 3C 測定と比較して合理的なモデルを構築し、さらに、計算されたゲノム構造ダイナミクスと、測定された遺伝子発現パターンとのダイナミクスの相関を統計的に分析して、遺伝子発現がゲノム構造を制御する、あるいはゲノム構造が発現を制御する過程を検証する。

(4) ヒトゲノムの核内構造をシミュレートするゲノム MD に挑戦し、染色体領域、染色体間領域がダイナミックに変動して遺伝子発現を制御する機構を解析する。

(5) 上記の新しい概念、すなわち、超非断熱揺らぎ、クロマチン構造ダイナミクス、ゲノム構造ダイナミクスの3つを検討する。具体例として、胚性幹細胞(ES細胞)を対象として解析する。ES細胞の多様性を、多様な準安定状態の存在という観点から説明する仮説を提案し、超非断熱揺らぎ、クロマチン構造ダイナミクス、ゲノム構造ダイナミクスが準安定状態間の遷移に与える影響を明らかにして、細胞分化を理解する新しい視点を獲得する。

## 3. 研究の方法

(1) 遺伝子発現の統計力学モデルを展開し、遺伝子の状態変化が遅い場合に生じる非断熱揺らぎの正体を理論的に明らかにする。

(2) 統計力学モデルを、クロマチンの遅い変化を考慮した超非断熱揺らぎのモデルに発展させる。

(3) クロマチン構造ダイナミクスのモデルを開発する。そして、核内すべての染色体の配置の揺らぎを扱うゲノム MD の方法を展開し、核内構造と遺伝子発現の相関を分析する。

(4) 上記の3つの新しい方法の開発を、3つの研究チームで実行する。このチームが協力して、胚性幹細胞のコア遺伝子ネットワークの揺らぎと制御の問題を対象として、遺伝子発現パターンとクロマチンの動的パターンとの関係を具体的に明らかにする。

#### 4. 研究成果

(1) これまで展開してきた遺伝子発現の統計力学モデルの経路積分表示 (PNAS 2003, J. Chem. Phys. 2007) をさらに発展させ、ニューヨーク州立大学の Jin Wang 教授との共同研究により、非断熱揺らぎを確率流の渦として表現する新手法を構築した。(図1参照)

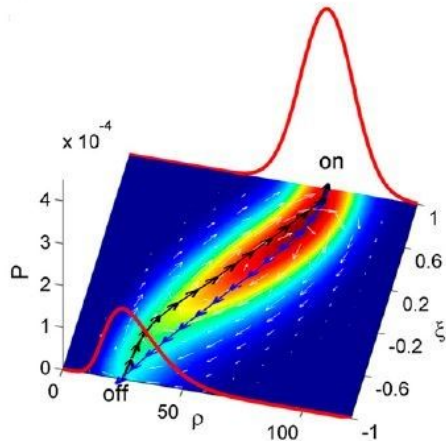


図1. 1遺伝子の負フィードバック回路における確率流。  $\rho$  はタンパク質個数、 $\xi$  はDNAの状態、 $P$  は確率分布。DNA状態変化の非断熱性のため、確率流は  $\rho$ - $\xi$  平面上で渦を形成している。

(2) 準備段階で用意してきたゲノム MD の方法をさらに整備し、ゲノム立体構造の変化による遺伝子制御機構が存在する可能性を分析した。出芽酵母のゲノムMDにより、遺伝子活性と遺伝子の核内空間配置分布との相関を示す結果を得た。(図2参照)。

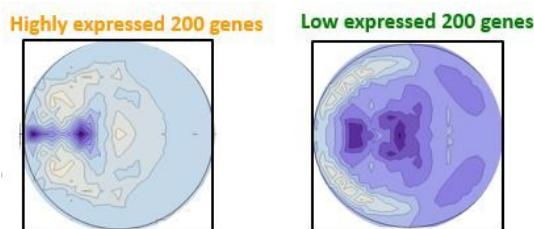


図2. 出芽酵母のゲノム MD による核内における遺伝子の空間分布シミュレーション。転写活性の高い上位200遺伝子の空間分布(左)および、転写活性の低い下位200遺伝子の空間分布(右)。転写活性の低い遺伝子は核膜に近く、転写活性の高い遺伝子は核のより内側に分布する。

(3) ゲノムMDの方法をヒトゲノムに適用するための方法を開発し、染色体テリトリーの安定性、染色体テリトリー界面の性質などについて解析した。二倍体のゲノムMDに必要な、自己無撞着的計算法について種々の検討を行い、大規模計算のための準備を行った(図3参照)。

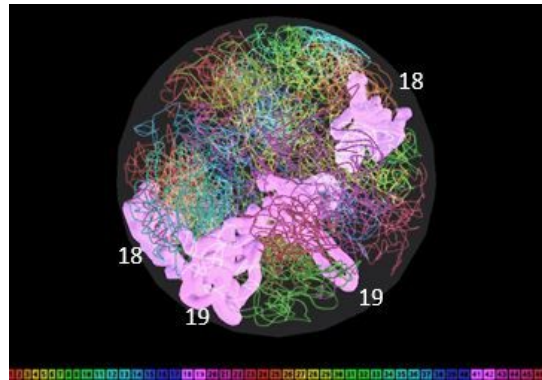


図3. ヒトのリンパ芽球細胞のゲノム MD。18番染色体と19番染色体が太い線で表示されている。

(4) 本研究と同時に受け入れた研究費である挑戦的萌芽研究による、胚性幹細胞のコア遺伝子ネットワークの確率シミュレーションの結果を利用し、上記の超非断熱揺らぎ、およびクロマチン構造ダイナミクスの2つの結果をもとに、モデルの改変による遺伝子発現シミュレーション結果への影響を概念的に整理して、計算と実験を比較するための枠組みを明らかにした。多段階の非断熱揺らぎを含む超非断熱揺らぎの理論を検討し、平均場理論、数値計算により、断熱近似を適用した際には存在しない豊富な種類の細胞状態間遷移経路の存在の示唆を得た。

以上のように、遺伝子発現を分子の生成・分解の確率過程と捉える統計力学モデル、遺伝子状態をクロマチン構造ダイナミクスによって記述する新手法、さらに、ゲノム全体の構造ダイナミクスを総合するマルチスケールの視点により、真核細胞の物理学という新しい分野の開拓に貢献した。

#### 5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計9件)

S. S. Ashwin, Masaki Sasai, Epigenetic Dynamics of Cell Reprogramming, arXiv:1410.2337 [q-bio.MN], 査読無, 2014, <http://arxiv.org/abs/1410.2337>

Qing-Miao Nie, Akio Togashi, Takeshi N. Sasaki, Mitsunori Takano, Masaki Sasai, Tomoki P. Terada, Coupling of lever arm swing and biased Brownian motion in actomyosin, PLoS Computational Biology, 査読有, Vol. 10, No.4, 2014, e1003552\_1-13, DOI: 10.1371/journal.pcbi.1003552

Takashi Inanami, Tomoki P. Terada, and Masaki Sasai, Folding pathway of a multidomain protein depends on its topology of domain connectivity, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 査読有, Vol. 111, No. 45, 2014, pp. 15969-15974, DOI: 10.1073/

pnas.1406244111

Kun Zhang, Masaki Sasai, Jin Wang, Eddy current and coupled landscapes for nonadiabatic and nonequilibrium complex system dynamics, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 査読有, Vol. 110, No.37, 2013, pp. 14930-14935, DOI: 10.1073/pnas.1305604110

Masaki Sasai, Yudai Kawabata, Koh Makishi, Kazuhito Itoh, Tomoki P. Terada, Time scales in epigenetic dynamics and phenotypic heterogeneity of embryonic stem cells, PLoS Computational Biology, 査読有, Vol. 9, No.12, 2013, e100338\_1-17, DOI: 10.1371/journal.pcbi.1003380

Tomoki P. Terada, Toru Kimura, Masaki Sasai, Entropic mechanism of allosteric communication in conformational transitions of dihydrofolate reductase J. Phys. Chem. B, 査読有, Vol. 117, No. 42, 2013, pp.12864-12877, DOI: 10.1021/jp402071m

Qing-Miao Nie, Masaki Sasai, Tomoki P. Terada, Conformational flexibility of loops of myosin enhances global bias in the actin-myosin interaction landscape, Phys. Chem. Chem. Phys, 査読有, Vol.16, No.14, 2012, pp. 6441-6447, DOI: 10.1039/c3cp54464h

Shin-I Nishimura, Masahiro Ueda, Masaki Sasai, Non-Brownian dynamics and strategy of amoeboid cell locomotion, Phys. Rev. E, 査読有, Vol. 85, 2012, 041909\_1-8, DOI: 10.1103/PhysRevE.85.041909

Naoko Tokuda, Tomoki P. Terada, Masaki Sasai, Dynamical modeling of 3D genome organization in interphase budding yeast, Biophys. J., 査読有, Vol. 102, 2012, No.2, pp. 296-304, DOI: 10.1016/j.bpj.2011.12.005; Correction 102, 2012, No.3, pp.719-719, DOI: 10.1016/j.bpj.2012.01.018

[学会発表](計27件)

Masaki Sasai, Fluctuating genome structure and gene regulation, The 1st Cellular Evolution Meeting, 和光, 2015年4月

Masaki Sasai, Epigenetic dynamics of gene regulation, Architecture, dynamics, and functionality of molecular biosystems, 岡崎, 2015年3月

Naoko Tokuda, Shin Fujishiro, Masaki Sasai, A coarse grained model of chromosomes

based on the Hi-C data, The 4D Nucleome 2014, 広島, 2014年12月

笹井 理生, 遺伝子制御ダイナミクスの理解へ向けて, 第20回交通流のシミュレーションシンポジウム, 名古屋, 2014年12月

Masaki Sasai, Toward a theory of gene regulation dynamics, 京大生命動態システム科学推進拠点事業大学院生セミナー, 京都, 2014年10月

Naoko Tokuda, Shin Fujishiro, Masaki Sasai, Are there transcriptionally inactive regions localized in a budding yeast nucleus? 第52回日本生物物理学会年会, 札幌, 2014年9月

Shin Fujishiro, Naoko Tokuda, Masaki Sasai, Computational chromosome conformation sampling of human diploid genome, 第52回日本生物物理学会年会, 札幌, 2014年9月

Ashwin S.S., Masaki Sasai, Epigenetic Dynamics of Cell Reprogramming, 第52回日本生物物理学会年会, 札幌, 2014年9月

Masaki Sasai, Naoko Tokuda, Shin Fujishiro, Fluctuating genome structure and gene regulation, 8th IUPAP International Conference on Biological Physics, Beijing, 2014年6月

笹井 理生, 徳田 直子, 藤城 新, ゲノム立体構造の動力学シミュレーション, 第14回日本蛋白質科学会年会, 横浜 2014年6月

Masaki Sasai, Koh Makishi, Tomoki P. Terada, Naoko Tokuda, Time and spatial scales of epigenetic dynamics, Seminar at Research Center for Mathematics on Chromatin Live Dynamics, 広島大学, 2013年12月

Masaki Sasai, Time and spatial scales of eukaryotic gene regulation, Workshop on Modeling Biomolecular Systems in Cellular Environment, 京都, 2013年10月

笹井 理生, 真核生物の遺伝子スイッチの時空間ダイナミクスの理解に向けて, 生命情報工学研究センターワークショップ, 東京, 2013年9月

Masaki Sasai, Time scales in epigenetic dynamics and landscapes, Physical Principles and Underlying Mechanisms of Biomolecules and Materials, 北京, 2013年8月

Masaki Sasai, Non-adiabatic gene switching and fluctuations in ES cells, Computational Methods for Bio and Complex Systems, ソウル, 2013 年 7 月

Masaki Sasai, Epigenetic dynamics of eukaryotic cells, 35th Annual International Conference of the IEEE Engineering of Medicine and Biology Society, 大阪, 2013 年 7 月

S. S. Ashwin, Masaki Sasai, Dynamical effects of the transcriptional apparatus formation in eukaryotic gene expression, STATPHYS25, ソウル, 2013 年 7 月

Naoko Tokuda, Masaki Sasai, Effects of fluctuation of chromosome conformation and spatial arrangement of genes on the pattern of gene expression, Biophysical Society 57th Annual Meeting, 米国ペンシルベニア州, 2013 年 2 月

寺田 智樹, ES 細胞の細胞運命決定における非平衡性の役割, 大学院物理学専攻・学部物理学系オープン・セミナー, 明星大学, 2012 年 12 月

Masaki Sasai, Fluctuations in epigenetic switches and landscapes, iCeMS seminar, 京都大学, 2012 年 9 月

越井 貴也, 寺田 智樹, 笹井 理生, Mean field theory of epigenetic dynamics of cell differentiation, 第 50 回生物物理学会年会, 名古屋大学, 2012 年 9 月

Masaki Sasai, Slow dynamics of chromatin and non-adiabatic gene switches, Characterizing Landscapes: From Biomolecules to Cellular Networks, 米国コロラド州, 2012 年 6 月

- ② Tomoki P. Terada, The role of non-adiabaticity in cell-fate decision of ES cells, The 3rd International Workshop on “Multiscale Characterizations of Biological Systems: From Molecules to Networks”, Nanjing, 2012 年 6 月

〔図書〕(計 2 件)

Naoko Tokuda, Masaki Sasai, Modeling of genomes, Chapter 21, Coarse-Grained Modeling of Biomolecules, ed. by Garegin A. Papoian, Taylor & Francis Books, 発行予定

笹井 理生, 寺田 智樹, 生体分子のつくるシステム、ゲノム系計算科学、美宅成樹編 (計算科学講座第 7 巻) (共立出版

2013) 1 月, ISBN 978-4-320-12272-7, pp. 173-219

〔その他〕  
ホームページ等  
[http://www.tbp.cse.nagoya-u.ac.jp/HM\\_proj.html](http://www.tbp.cse.nagoya-u.ac.jp/HM_proj.html)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

笹井 理生 (SASAI, Masaki)  
名古屋大学・大学院工学研究科・教授  
研究者番号: 30178628

(2) 連携研究者

寺田 智樹 (TERADA, Tomoki)  
名古屋大学・大学院工学研究科・准教授  
研究者番号: 20420367

千見寺 浄慈 (CHIKENJI, George)  
名古屋大学・大学院工学研究科・助教  
研究者番号: 10420366

(3) 研究協力者

Jin Wang (WANG, Jin) New York 州立大