


超解像イメージングで明らかにするクロマチドメインとその細胞機能制御

	研究代表者	国立遺伝学研究所・遺伝メカニズム研究系・教授 前島 一博 (まえしま かずひろ)	研究者番号: 00392118
	研究課題情報	課題番号: 24H00061 キーワード: ゲノム、クロマチン、生細胞観察、超解像顕微鏡	研究期間: 2024年度～2028年度

なぜこの研究を行おうと思ったのか (研究の背景・目的)

●研究の全体像

私たちの体は約40兆個の細胞から構成されており、細胞の核一つ一つには全長約2メートルのヒトゲノムDNAが収められている。DNAには、RNAやタンパク質の設計図である遺伝情報が書かれている。負の電荷を帯びた細いものであるDNAは、正電荷を帯びたタンパク質であるヒストンに巻きつき、ヌクレオソームという構造体を作る(図1左)。ヌクレオソームに他のタンパク質やRNAが結合したものをクロマチンと呼ぶ。約2メートルのDNAで作られた長いヌクレオソームの連なりは、どのように小さな細胞の核に収納され、どのように振る舞うのだろうか? この問題はDNA構造の解明から70年が経過した現在でも、生物学の根本的な課題である。

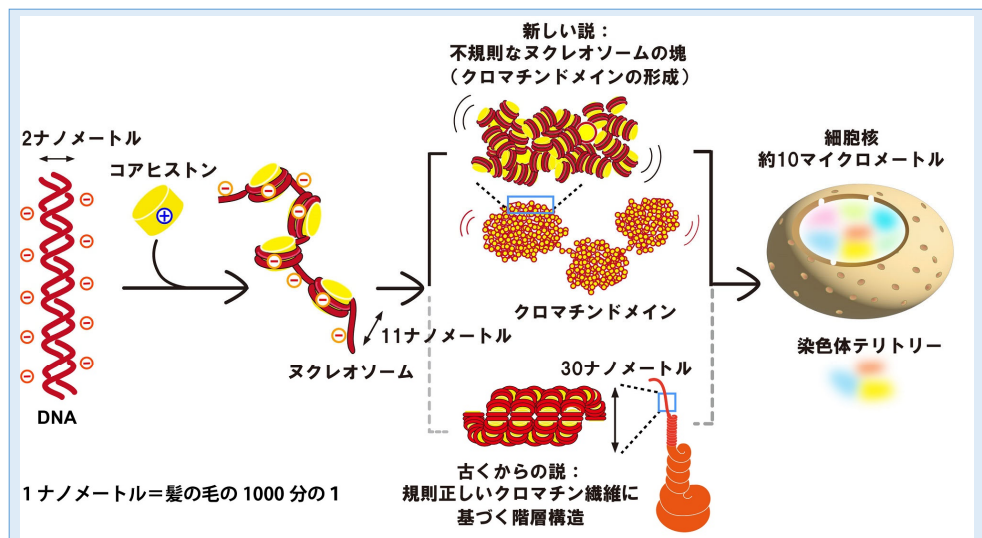


図1 DNA、ヌクレオソーム、クロマチドメインの模式図。生きた細胞におけるクロマチン構造の新しい説は上段、古くからの説は下段に描かれている。図はIde et al., *BioEssays* 2023より改変。

従来の説では、ヌクレオソームは規則正しく配置されて直径30ナノメートルの線維をつくり、さらにらせん状に折り畳まれて階層構造を形成するとされていた(図1下段)。この説に従うと、あるタンパク質がゲノムDNAのある領域に結合したい場合、すべての階層構造をほどこき直す必要がある。しかし、代表者前島らの研究成果によると、ヒト細胞内のヌクレオソームの線維は、30ナノメートル線維をはじめとする規則正しい階層構造をつくらず、むしろ不規則に折り畳まれていることが明らかになってきた(図1上段)(Maeshima et al., *Curr Opin Cell Biol* 2019)。この不規則な折り畳みから、ヌクレオソームは物理的にあまり束縛されておらず、流動的であると予想された。実際、単一の分子を観測できる一分子顕微鏡を用いて、生きた細胞内の個々のヌクレオソームの動きを追跡すると、ヌクレオソームはその場でダイナミックに揺らぎ、短い時間においては液体のように振る舞うことが判明している(Iida et al., *Science Adv* 2022; Nozaki et al., *Science Adv* 2023)。また、超解像顕微鏡により、細胞内のヌクレオソームの分布を高解像度で観察することで、これらが直径200ナノメートル程度のクロマチドメインという塊を形成することも分かってきた(図1上段)(Nozaki et al., *Mol Cell* 2017; Miron et al., *Science Adv* 2020; Nozaki et al., *Science Adv* 2023)。

DNAの複製やRNAへの転写などは、クロマチドメインを単位として進行すると考えられている。さらに、これらのプロセスに関わるタンパク質が、クロマチドメイン内部のDNA領域を探索するとき、ヌクレオソームの揺らぎがクロマチドメイン内部へのアクセスを助けていることも明らかになってきた (Hihara et al., *Cell Rep* 2012)。

本研究では、生きた細胞において、クロマチドメインの実態、すなわち、その物理的な性質を解明すること、さらに、クロマチドメインがDNAの複製、RNAへの転写などのゲノムの機能にどのように寄与するかを明らかにすることを目的とする。

この研究によって何をどこまで明らかにしようとしているのか

●新しい超解像顕微鏡システムの構築

生きた細胞のクロマチドメインを可視化できる構造化照明顕微鏡と、一分子の動きを追跡できる顕微鏡を組み合わせ、新しい超解像顕微鏡システムを構築する(図2)。このシステムを用いて、生きたヒト細胞のクロマチドメインの構造と、その内部や外部のヌクレオソーム、タンパク質分子の振る舞いを観察する。

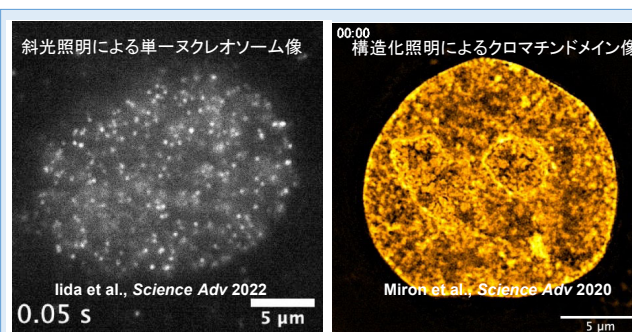


図2 左の一個一個のドットは単一のヌクレオソームをあらわしている。各ドットの中心を正確に決定することにより、ヌクレオソームの動きを10ナノメートル以下の精度で測定できる。右は、構造化照明顕微鏡による超解像クロマチン像。クロマチンが塊(ドメイン)を形成している。

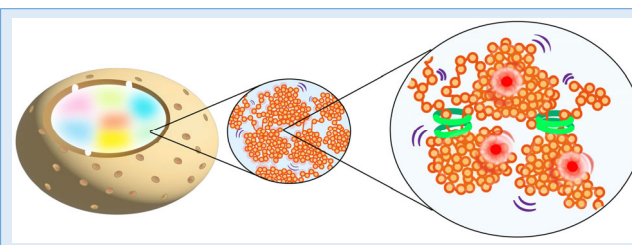


図3 生きた細胞のユークロマチン・ヘテロクロマチドメインの構造とその中のヌクレオソームや他のタンパク質の動きを新規顕微鏡システムで観察する。

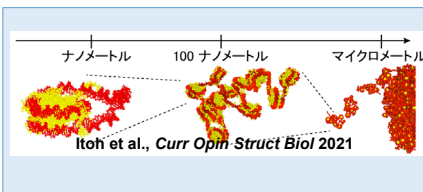


図4 マルチスケールクロマチンモデリング。ヌクレオソームからクロマチドメインまで、ヌクレオソームの振る舞いを計算機で再現する。

●ユークロマチン・ヘテロクロマチンの特異的な標識方法の開発

クロマチンには遺伝子が活発に転写されているユークロマチンと、遺伝子が少なく、ほとんど不活化されているヘテロクロマチンが存在する。両者のヒストン修飾の違いなど、生化学的な相違はよく分かっている一方で、クロマチドメインの物理的な性質の違いはほとんど分かっていない。このため、生きた細胞で両者を特異的に蛍光標識する(目印を付ける)方法を開発し、以下の項目に用いる。

●生細胞のユークロマチン・ヘテロクロマチドメインの実態の解明

生きた細胞のユークロマチン・ヘテロクロマチドメインと、クロマチドメインの内部や外部のヌクレオソーム、タンパク質分子の振る舞い(動きの軌跡)を、構造化照明と一分子顕微鏡(図2)を用いて測定する(図3)。各クロマチドメインの物理的な性質と、クロマチドメイン内部にタンパク質がどのようにアクセスするかを解析する。さらに、実験と計算機モデル(図4)を組み合わせて、クロマチドメインの実態とその形成メカニズムを解明する。

●クロマチドメインによる細胞機能の制御の理解

クロマチドメインの物理的な性質という側面から、転写制御などの細胞機能の理解、さらに、正常細胞、種々のがん細胞、老化細胞、疾患細胞を用い、クロマチドメインの物理的な性質の変化を介した細胞機能不全・細胞分化のメカニズム解明を目指す。