

平成 30 年 6 月 13 日現在

機関番号：13901

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2017

課題番号：26610130

研究課題名(和文)ゲノム動力学による転写制御機構の解明

研究課題名(英文)Genome structural dynamics and transcription regulation

研究代表者

笹井 理生 (SASAI, Masaki)

名古屋大学・工学研究科・教授

研究者番号：30178628

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、エピゲノム情報から染色体の局所物性を推測し、分子動力学計算を行って、その結果をHi-C実験データと比較・検証した。ヒト線維芽細胞およびリンパ芽球様細胞についてシミュレーションを行った結果、染色体のうち核小体と接触するドメインが動的に形成される様子を説明することに成功し、ラミナと染色体の相互作用データ、Hi-C実験データを定量的に説明するモデルの構築に成功した。転写の活発な領域と不活発な領域が自発的にコンパートメントを形成する過程を計算し、ゲノム構造と転写制御の動的関係について解析を行った。さらに、この方法をゲノム物理学の系統的研究に用いる研究計画をたてている。

研究成果の概要(英文)：Genome is not an abstract sequence of alphabet but a physical entity confined in the nucleus. We developed a computational method to simulate the three-dimensional structure and movement of genomes. We consider chromosomes as heteropolymers, which are comprised of local chromatin regions having various different physical properties; we assumed that those local properties are determined by the epigenetic histone marks of the corresponding regions. Simulations of human fibroblast and lymphoblastoid nuclei showed that the method developed in this project quantitatively reproduced the experimentally observed contact frequency between chromatin regions and nuclear lamina, Hi-C contact pattern data, contact frequency between chromatin regions and nucleoli, and compartmentalization of transcription active and inactive regions. Thus, the computational method developed in this project can be a platform for the systematic study of genome physics.

研究分野：理論生物物理学

キーワード：クロマチン ゲノム 分子動力学 転写制御 相分離

1. 研究開始当初の背景

ゲノムは抽象的な1次元配列ではなく、3次元空間中の物理的存在である。超解像顕微鏡やChromosome Conformation Capture (3C) 技術などの急速な発展に伴い、ゲノムの3次元構造についての知識は、この数年間に急増した(例えば Cavalli and Misteli 2013 *Cell*)。その結果判明したことは、ゲノムは核内で動的に大きく運動する物質であるということである。この運動によって転写因子のゲノムへの接近の容易さが制御され、遺伝子発現が制御されていると考えられるため、ゲノム動力学の解明はES細胞、分化、がん生物学など、生命科学の広い問題にとって基本的な重要性を持つと考えられる。本研究の研究代表者はこれまで、統計物理学と計算科学の方法を用いて、タンパク質の構造と運動の理論を研究してきた。タンパク質理論の方法と概念を用いて、出芽酵母の間期核内のゲノム動力学計算を行い、酵母の16本のゲノムは大きく揺らぐこと、しかし全くランダムにはなく、各遺伝子はそれぞれ特徴的な運動の範囲を持つことなどの知見を得ることができた(Tokuda, Terada, and Sasai, 2012 *Biophys. J.*)。この仕事にやや遅れて、マウス、ヒトのゲノム構造についての3C-拡張法(Hi-C法やTCC法)に基づいた論文が現れ、ゲノム立体構造のモデル化が多くの研究チームによって試みられている。しかし、そのどれもが静的なモデル構造の構築を目標としており、動力学に焦点を当てたものではなかった。タンパク質動力学の方法と概念を用いてゲノム動力学に迫る本研究は、国際的な研究をリードする挑戦的研究である。

2. 研究の目的

ゲノムは動いている。この運動によって転写因子のゲノムへの接近の容易さが制御され、遺伝子発現が制御されていると考えられる。このため、ゲノム動力学の解明はES細胞、分化、がん生物学など、生命科学の広い問題にとって基本的な重要性を持つ。本研究の研究代表者はこれまで、タンパク質構造理論のアナロジーを用いて、出芽酵母の間期核内ゲノム構造の動力学計算を行ったが、本研究では、この発想をさらにヒトゲノムに適用し、十分な解像度を持った動力学モデルを構築して、ヒトゲノム運動法則の解明に挑戦する。100Mb程度のコヒーレントな運動領域、1-10Mb程度のトポロジカルドメインなど、運動単位の生成消滅、運動機構、遺伝子発現との関係を明らかにし、実験との比較、遺伝子ネットワーク理論との連携を通じて、生命現象解明のための基盤知識を獲得する。

3. 研究の方法

次の2つの方法を実行し、比較した。

(1) 核内の染色体の集合を、高い密度に閉じ込められて相互作用しながら運動する「ひ

も」の集合体と考えれば、ゲノム動態の研究に、これまでの生体高分子の動力学計算の方法と考え方が応用できるはずである。タンパク質フォールディングの研究で用いられた経験的ポテンシャルの方法、すなわち、Hi-C実験で得られた高解像度のデータを再現するように、相互作用を経験的ポテンシャルとして表現することにより、大規模で長時間の揺らぎ運動を追跡できると考えられる。本研究では、最近蓄積されたゲノム2点間のHi-C接近頻度データをもとに、こうしたポテンシャルを構築する。このポテンシャルをもとに分子動力学シミュレーションを実行する。ヒトゲノムの2倍体固有の問題については、シミュレーション結果を自己無撞着に扱って繰り返し計算することにより解決する。

(2) Hi-C実験で得られたデータからつくられた経験的ポテンシャルを用いず、染色体をエピゲノムデータから推定される物性を持った高分子ひもと捉え、第1原理的な考え方によってヒトゲノム動力学シミュレーションを実行する。計算された構造データとHi-C実験で得られたデータを比較して、Hi-C実験で得られたデータをシミュレーションの答え合わせとして用いる。この方法では、エピゲノムデータの自己無撞着的扱いにより、2倍体固有の問題が自然に解決できる。

4. 研究成果

(1) Hi-C実験で得られた高解像度のデータを再現するように、相互作用を経験的ポテンシャルとして表現するモデルを構築し(研究方法(1))、出芽酵母の間期核内ゲノム動態について、大規模で長時間の揺らぎ運動を追跡する計算を行った。野生型と変異型の細胞を比較することにより、遺伝子活性とその遺伝子の核内空間分布の相関を解析し、核内の局所配置によって遺伝子の活動の制御がされている証拠を示した(図1)

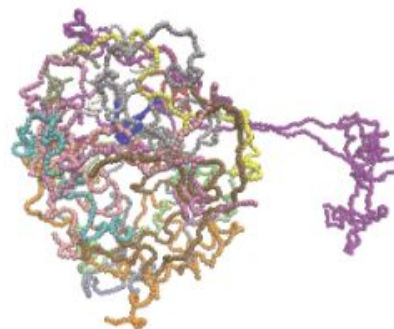


図1 出芽酵母ゲノムの分子動力学計算のスナップショット。16本の染色体が高分子ひもとして表現されている。

(2) Hi-C実験で得られた高解像度のデータを再現するように、相互作用を経験的ポテンシ

ヤルとして表現するモデルを構築し(研究方法(1))、ヒト fibroblast 細胞に適用した。ヒト染色体の立体構造については興味深い結果が得られたが、核周辺部のラミナと染色体のどの部位が接触するかという問題には正しい結果が得られなかった。このことは、核内の正しい染色体配置を再現する計算を行うためには、染色体とラミナ間の引力を仮定する必要がある。この引力は長距離である必要があり、しかも、上記の経験的ポテンシャルによる力とのバランスをとるため、その強さを細かく調整する必要がある。これらは、生化学的に実現されている過程を素直に表しているとは思われないため、より見通しのよいモデルを構築するためには、方法論を根本から再検討する必要があるが明らかになった。

(3) 上記の困難を克服するため、染色体を、エピゲノムデータから推測される局所物性を持つ高分子ひもとしてとらえて分子動力学計算を行い、その結果を Hi-C 実験で得られたデータと比較して検証するという新しい研究方法の戦略を採用することとした(研究方法(2))。そのため、まずヒト fibroblast 細胞についてデータベースに登録されている 29 種類のエピゲノム情報を機械学習により 6 次元状態に分類した。この 6 次元状態に応じた物性を仮定して、染色体を多様な物性が不均一に連結されたヘテロポリマーと考え、分子動力学計算を行った。その結果、この方法はヒト fibroblast 細胞における染色体とラミナの相互作用、および Hi-C 実験データを 100kb の高解像度までうまく説明することを示すことができた。

(4) ヒトについて 29 種類ものエピゲノムデータが公開されているのは、fibroblast 細胞のみであり、そのように多量のデータを必要とする方法には、他細胞への汎用性がない。そこで、ニューラルネット深層学習、隠れマルコフ法、潜在的ディリクレ配分法を比較検討した結果、6 種類のエピゲノム情報だけで染色体の状態を 5 次元状態に合理的に分類する統計的方法を開発することに成功し、その有効性を示すことができた。

(5) 核小体の自発形成のダイナミクスを考慮したモデルを構築し、上記のエピゲノム情報の統計的解釈法を利用して、ヒト fibroblast 細胞および lymphoblastoid 細胞についてシミュレーションを行った。その結果、染色体のうち核小体と接触する nucleolous associated domain が動的に形成される様子を説明することに成功し、ラミナと染色体の相互作用、Hi-C 実験データを再現できるモデルの構築に成功した(図 2)。遺伝子発現の活発な領域と不活発な領域が自発的にコンパートメントを形成する過程を計算し、ゲノム構造と転写制御の動的関係を

示す解析を行った。これまでの結果を論文にして報告する努力を継続しているが、さらに次のステップとして、この方法を系統的に適用する研究計画をたてている。

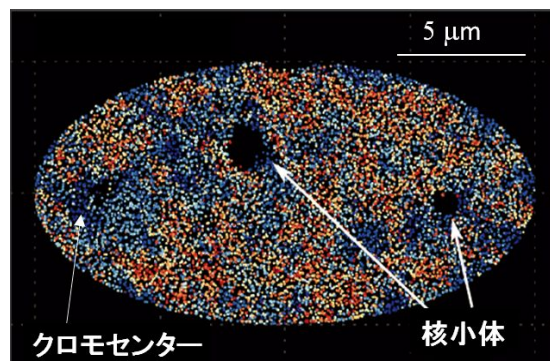


図 2 ヒト fibroblast 細胞の 46 本の染色体が集合した核内構造モデル断面像。分子動力学計算によって生成されたスナップショット。赤・黄色の点はユークロマチン領域、青い点はヘテロクロマチン領域。

(6) ゲノム構造の変化によって遺伝子活性が動的に制御される過程を数理モデルによって表現し、リプログラミングにおけるゲノム構造ダイナミクスの重要性を理論的に検討した。

(7) タンパク質相互作用システムの典型例を数理モデルにより解析し、ゲノム立体構造が概日周期により制御される機構を分析するためのテスト計算をおこなった。

(8) ゲノム構造が動的に変化することが転写制御にとって重要であることを、種々の観測データ、理論計算を概観することによって指摘し、レビュー論文の中で議論した。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 7 件)

S. Das, T. P. Terada & M. Sasai, Role of ATP hydrolysis in cyanobacterial circadian oscillator. *Scientific Reports*, 査読有, 7, 17469_1-10 (2017). doi:10.1038/s41598-017-17717-z

N. Tokuda & M. Sasai, Heterogeneous spatial distribution of transcriptional activity in budding yeast nuclei. *Biophysical Journal*, 査読有, 112, 491-504 (2017). doi:10.1016/j.bpj.2016.11.3201

M. Sasai, G. Chikenji & T. P. Terada, Cooperativity and modularity in protein folding. *Biophysics and Physicobiology*, 査読有, 13, 281-293 (2016). doi:10.2142/biophysico.13.0_281

K. Maeshima, S. Ide, K. Hibino & M. Sasai, Liquid-like behavior of chromatin. *Current Opinion in Genetics and Development*, 査読有, **37**, 36-45 (2016). doi:10.1016/j.gde.2015.11.006

笹井理生, 寺田智樹, 真核細胞のルースな遺伝子制御とクロマチン動態. *生物物理*, 査読有, **56**, 106-108 (2016). doi:10.2142/biophys.56.106

C. Chen, K. Zhang, H. Feng, M. Sasai & J. Wang, Multiple coupled landscapes and non-adiabatic dynamics with applications to self activating genes. *Phys. Chem. Chem. Phys.* 査読有, **17**, 29036-29044 (2015). doi:10.1039/C5CP04780C

S. S. Ashwin & M. Sasai, Effects of collective histone dynamics on epigenetic landscape and kinetics of cell reprogramming. *Scientific Reports*, 査読有, **5**, 16746_1-12 (2015). doi:10.1038/srep16746

[学会発表](計20件)

M. Sasai, Role of dynamical DNA methylation in gene regulation, International Conference on Biological Physics 2017, Rio de Janeiro, 口頭講演 (2017).

S. Fujishiro & M. Sasai, The phase-separation principle of human genome architecture, 第55回日本生物物理学会年会, 熊本 招待講演 (2017).

M. Sasai, The phase-separation principle of human genome folding, CSRC Workshop on DNA Chromosome Structure and Dynamics, Beijing 招待講演 (2017).

M. Sasai, Physical bases of 3D genome organization, CDB Seminar, 神戸 招待講演 (2017).

M. Sasai, Genome folding: Analogy to protein folding problems. The 3rd Korean-Polish Conference on "Protein Folding: Theoretical and Experimental Approaches" Korea 招待講演 (2017).

M. Sasai, The 3D genome architecture and transcriptional regulation, Gordon Research Conference on Stochastic Physics in Biology, Ventura, USA 招待講演 (2017).

S. Fujishiro & M. Sasai, 3D genome architecture inferred from epigenome, The 3rd International Conference on

Computational Science and Engineering, Ho Chi Minh City, Vietnam 招待講演 (2016).

S. Fujishiro & M. Sasai, Genome folding inferred from epigenome, 第39回日本分子生物学会, 横浜 招待講演 (2016).

N. Tokuda & M. Sasai, Mechanism for the misregulated gene expression in the yku70 esc1 mutant of budding yeast. 第54回日本生物物理学会 つくば 招待講演(2016).

M. Sasai, Fluctuating three-dimensional genome architecture and gene regulation. Gordon Research Conference on Protein Folding Dynamics, Texas, USA 招待講演 (2016).

N. Tokuda, S. Fujishiro & M. Sasai, Chromatin domains and heterogeneous transcription activities. International Conference on Chromatin Structure, Dynamics and Function, 兵庫 招待講演 (2015).

M. Sasai, Eukaryotic gene regulation and chromosome architecture. CSRC Workshop on Kinetics of Enzymes and Molecular Machines. Beijing 招待講演 (2015).

B. Bhattacharyya & M. Sasai, Eddy current flow of probability in stochastic gene expression dynamics in eukaryotes. New Frontiers in Non-equilibrium Statistical Physics, 京都 ポスター発表 (2015).

S. S. Ashwin & M. Sasai, Fluctuations and histone state dynamics on topology of epigenetic landscape. New Frontiers in Non-equilibrium Statistical Physics, 京都 ポスター発表 (2015).

M. Sasai, Eukaryotic chromatin folding and gene regulation. 3rd International Workshop on Theoretical and Computational Physics, Dalat, Vietnam 招待講演 (2015).

N. Tokuda, S. Fujishiro & M. Sasai, A coarse-grained model of chromosomes based on the Hi-C data. The 4D Nucleome 2014, 広島 招待講演 (2014).

S. Fujishiro, N. Tokuda & M. Sasai, Computational chromosome conformation sampling of human diploid genome. 第52回日本生物物理学会年会 札幌 ポスター発表 (2014).

N. Tokuda, S. Fujishiro & M. 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 ポスター発表 (2014).

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 招待講演 (2014).

M. Sasai, N. Tokuda & S. Fujishiro, Fluctuating genome structure and gene regulation. 8th IUPAP International Conference on Biological Physics, Beijing 招待講演 (2014).

〔図書〕(計 1 件)

N. Tokuda and M. Sasai, Modeling of genomes, Chapter 9 in *Coarse-Grained Modeling of Biomolecules*, ed. by G. Papoian (CRC Press Taylor & Francis Group) pp.335-360 (2017).

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 : 3 0 1 7 8 6 2 8