

染色体における遺伝子の発現・維持・継承のメカニズムの解明

研究代表者 胡桃坂 仁志
(先進理工学部 電気・情報生命工学科 教授)

1. 研究課題

真核生物のゲノム DNA は、DNA 結合タンパク質と結合したクロマチン構造として細胞核内に収納されている。クロマチンはダイナミックに構造変換することが分かっており、クロマチン動態こそが遺伝情報発現制御の根幹をなすと考えられている。しかし、このクロマチン動態制御の詳細な機構は未だ明らかになっていない。クロマチンの最小機能単位は、4種類のヒストンタンパク質から構成されるヒストン8量体の周りに DNA が約1.7周巻き付いたヌクレオソームと呼ばれる円盤状の構造体である。さらに、4種類のヒストンには“ヒストンバリエーション”と呼ばれる亜種が非常に多く存在し、この多様なヒストンバリエーションによって形成される特殊なクロマチン構造によって、DNA の転写、複製、修復、組換えなどの DNA 機能発現制御が厳密に制御されると考えられている。本研究では、ヒストンバリエーションが規定するクロマチンドメインの機能および構造解析、さらにクロマチン上で起こる DNA 修復機構の解明を目的とする。

2. 主な研究成果

2.1 がん細胞の染色体に見られる CENP-A/H3 ハイブリッドヌクレオソームの構造解析

細胞分裂期において、クロマチンは非常に密に凝縮し、染色体と呼ばれる構造体になる。染色体には中央付近に一次狭窄部位が観察され、その領域をセントロメアと呼ぶ。セントロメア領域にはヒストンバリエーション CENP-A が存在し、CENP-A によって特殊なクロマチン構造が形成されると考えられている。これまでに我々は、CENP-A を含むヌクレオソームの立体構造を解明し、セントロメア領域における CENP-A の機能を明らかにした (Tachiwana, *et al.*, *Nature*, 2011)。また、先行研究によって、がん細胞において過剰に発現した CENP-A がセントロメア領域以外の染色体領域に局在し、これが染色体の不安定化を引き起こすことが報告された。さらに、セントロメア領域以外の染色体領域に局在する CENP-A を含むヌクレオソームには、CENP-A と H3.3 が1分子ずつ含まれることが報告された。CENP-A と H3.3 を含むハイブリッドヌクレオソームによるクロマチン構造を明らかにするために、CENP-A/H3 ハイブリッドヌクレオソームを試験管内で再構成し、X線結晶構造解析を行った。その結果、ヌクレオソーム中で CENP-A と H3.3 のそれぞれの特徴的な性質が観察された。さらに、CENP-A を2分子含むヌクレオソームと比較して、ハイブリッドヌクレオソームは構造安定性が高いことが明らかになった。このことは、がん細胞において高発現した CENP-A がセントロメア以外の領域に安定に局在することで、細胞分裂期における正常な染色体分配が行われない原因に

なることを示唆している。

2.2 高次クロマチン上での DNA 二重鎖切断損傷修復メカニズムの解明

生物のゲノム DNA は紫外線や放射線、活性酸素などによって恒常的に損傷を受けており、その中でも DNA の二重鎖切断損傷は、遺伝情報を失う可能性の高い極めて重篤な損傷である。この損傷を修復する機構の一つに相同組換え修復がある。真核生物においては、Rad51 タンパク質が相同組換え修復の中心的な役割を果たすことが分かっており、これまで相同組換え修復機構に関するさまざまな研究がなされてきた。しかし、多くの研究が相同組換え修復タンパク質の DNA 上での機能を解析したものであり、クロマチン上での機能を解析した例は非常に少ない。真核生物のゲノム DNA はヌクレオソームを基盤としたクロマチン構造を形成しており、リンカーヒストン H1 によってクロマチンが凝集した状態にあることが分かっている。それゆえに、真核生物においては DNA 修復が行われる際、大規模なクロマチン再編成が行われ、修復されるゲノム領域が露出される必要がある。本研究において、ヌクレオソーム-H1 複合体であるクロマトソーム上では、Rad51 および Rad51 と協同的に働く Rad54 の機能が阻害されること、さらにヒストンシャペロン Nap 1 が H1 を除去することによって、相同組換え修復因子の機能が活性化されることを明らかにした。

3. 共同研究者

木村宏 (東京工業大学)

田代聡 (広島大学)

井倉毅 (京都大学)

深川竜郎 (大阪大学)

Geneviève Almouzni (キュリー研究所)

香川亘 (明星大学)

有村泰宏 (早稲田大学)

町田晋一 (早稲田大学)

高久誉大 (早稲田大学)

立和名博昭 (早稲田大学)

越阪部晃永 (早稲田大学)

佐藤浩一 (早稲田大学)

堀越直樹 (早稲田大学)

小林航 (早稲田大学)

藤田理紗 (早稲田大学)

4. 研究業績

4.1 学術論文

Kono H., Shirayama K., Arimura Y., Tachiwana H., Kurumizaka H., Two arginine residues suppress the flexibility of nucleosomal DNA in the canonical nucleosome core, *PLoS One*, **10**, e0120635 (2015)

Saikusa K., Shimoyama S., Asano Y., Nagadoi A., Sato M., Kurumizaka H., Nishimura Y., Akashi S., Charge-neutralization effect of the tail regions on the histone H2A/H2B dimer structure, *Protein Sci.*, in press (2015)

Ichikawa Y., Nishimura Y., Kurumizaka H., Shimizu M., Nucleosome organization and chromatin dynamics in telomeres, *Biomol Concepts*, **6**, 67-75 (2015)

Kato D., Osakabe A., Tachiwana H., Tanaka H., Kurumizaka H., Human tNASP promotes in vitro nucleosome assembly with histone H3.3, *Biochemistry*, **54**, 1171-1179 (2015)

Saikusa K., Nagadoi A., Hara K., Fuchigami S., Kurumizaka H., Nishimura Y., Akashi S., Mass spectrometric approach for characterizing the disordered tail regions of the histone H2A/H2B dimer, *Anal. Chem.*, **87**, 2220-2227 (2015)

Sato K., Ishiai M., Takata M., Kurumizaka H., Defective FANCI binding by a fanconi anemia-related FANCD2 mutant, *PLoS One*, **9**, e114752 (2014)

Arimura Y., Shirayama K., Horikoshi N., Fujita R., Taguchi H., Kagawa W., Fukagawa T., Almouzni G., Kurumizaka H., Crystal structure and stable property of the cancer-associated heterotypic nucleosome containing CENP-A and H3.3, *Sci. Rep.*, **4**, 7115 (2014)

Nishibuchi G., Machida S., Osakabe A., Murakoshi H., Hiragami-Hamada K., Nakagawa R., Fischle W., Nishimura Y., Kurumizaka H., Tagami H., Nakayama J., N-terminal phosphorylation of HP1 α increases its nucleosome-binding specificity, *Nucleic Acids Res.*, **42**, 12498-12511 (2014)

Osakabe A., Takahashi Y., Murakami H., Otawa K., Tachiwana H., Oma Y., Nishijima H., Shibahara K.I., Kurumizaka H., Harata M., DNA binding properties of the actin-related protein Arp8 and its role in DNA repair, *PLoS One*, **9**, e108354 (2014)

Taguchi H., Horikoshi N., Arimura Y., Kurumizaka H., A method for evaluating nucleosome stability with a protein-binding fluorescent dye, *Methods*, **70**, 119-126 (2014)

Hayashi-Takanaka Y., Stasevich T.J., Kurumizaka H., Nozaki N., Kimura H., Evaluation of chemical fluorescent dyes as a protein conjugation partner for live cell imaging, *PLoS One*, **9**, e106271 (2014)

Takahashi D., Sato K., Shimomuki M., Takata M., Kurumizaka H., Expression and purification of human FANCI and FANCD2 using Escherichia coli cells, *Protein Expr. Purif.*, **103**, 8-15 (2014)

Sugiyama M., Arimura Y., Shirayama K., Fujita R., Oba Y., Sato N., Inoue R., Oda T., Sato M., Heenan R.K., Kurumizaka H., Distinct features of the histone core structure in nucleosomes containing the histone H2A.B variant, *Biophys. J.*, **106**, 2206-2213 (2014)

Machida S., Takaku M., Ikura M., Sun J., Suzuki H., Kobayashi W., Kinomura A., Osakabe A., Tachiwana H., Horikoshi Y., Fukuto A., Matsuda R., Ura K., Tashiro S., Ikura T., Kurumizaka H., Nap1 stimulates homologous recombination by RAD51 and RAD54 in higher-ordered chromatin containing histone H1, *Sci. Rep.*, **4**, 4863 (2014)

Unno J., Itaya A., Taoka M., Sato K., Tomida J., Sakai W., Sugasawa K., Ishiai M., Ikura T., Isobe T., Kurumizaka H., Takata M., FANCD2 binds CtIP and regulates DNA-end resection during DNA interstrand crosslink repair, *Cell Rep.*, **7**, 1039-1047 (2014)

Urahama T., Horikoshi N., Osakabe A., Tachiwana H., Kurumizaka H., Structure of human nucleosome containing the testis-specific histone variant TSH2B, *Acta Crystallogr. F Struct. Biol. Commun.*, **70**, 444-449 (2014).

4.2 総説・著書

越阪部晃永、胡桃坂仁志、クロマチン構造基盤の多様性—古くて新しい動的構造体の不思議—
Structural Versatility of the Fundamental Unit of Chromatin、ナノ学会会報、13、3-7

越阪部晃永、堀越直樹、胡桃坂仁志、エピジェネティクスの構造基盤、構造生命科学で何がわかるのか、何ができるのか、羊土社、216-220、2014

胡桃坂仁志、ヒストンバリエント—ベールの向こうの多様な機能、羊土社、2058-2063、2014

4.3 招待講演

Structure and dynamics of the nucleosome isoforms、高等研カンファレンス 2014 「クロマチン・デコーディング」、京都

エピジェネティクスにおけるヒストンバリエントの役割、第8回日本エピジェネティクス研究会年会、東京

Structures and physical properties of nucleosome isoforms with histone variants, EMBO meeting on Histone Variants, Strasburg, France

ワークショップ「クロマチンの動態構造と DNA 機能発現機構」、第 14 回日本蛋白質科学会年会、横浜

BIOCHEMICAL ANALYSES OF RICE DNA RECOMBINASES RAD51 AND DMC1, Plant Genome Stability and Change 2014, Pacific Grove, USA

クロマチン構造とダイナミクスの多様性による遺伝子のエピジェネティクス制御機構、第 26 回高遠・分子細胞生物学シンポジウム、長野

クロマチン動構造とヒストンバリエーション、第 52 回日本生物物理学会年会、北海道

創薬や再生医療の基盤となる「動くクロマチン構造」を追う、第 87 回日本生化学会大会、京都

Biochemical studies for homologous recombination reaction in chromatin, The 9th 3R Symposium, 大阪

クロマチンのエピジェネティック制御と創薬、第 37 回日本分子生物学会年会、横浜

Structural and functional studies of various nucleosomes as fundamental building blocks for Chromatin, 国際シンポジウム「The 4D Nucleosome 2014」, 広島

4.4 受賞・表彰

4.5 学会および社会的活動

NIH セミナー、タイトル "Structural basis of the centromeric chromatin formation"

同志社女子高等学校講演、タイトル「遺伝子を操る染色体のしくみと創薬」

(株)リバネス バイオガレージセミナーVol.3、タイトル「クロマチン機能制御機構の構造生物学的研究」

広島大クロマチン動態数理研究拠点ミニシンポジウム講演、タイトル "Contribution of histone variants in chromatin structure"

動的クロマチン構造と機能一般公開シンポジウム第 2 弾「生き物と細胞の設計図～DNA・クロマチン・核」、講演、タイトル「原子レベルで見る生命の設計図」

東京大学集中講義、タイトル「ゲノムと生体情報の科学」

東京薬科大学講演、タイトル「生命現象を支配するエピジェネティクスの構造基盤」

座長、ワークショップ「クロマチンのエピジェネティック制御と創薬」、第 37 回日本分子生物学会年会

座長、シンポジウム「創薬や再生医療の基盤となる「動くクロマチン構造」を追う」、第 87 回日本生化学会大会

5. 研究活動の課題と展望

近年、大規模なゲノム解析によって、ヒストンにおける変異やヒストンバリエントの発現量と発がんやがんの悪性化との関連が示唆されている。これらの関係やそのメカニズムを原子・分子レベルで解明することは、がん発生機序の解明および新規抗がん剤の創出への多大な貢献につながると期待される。今後は、がん細胞で見つかったヒストン変異体によるクロマチン動態や色素性乾皮症の原因である DNA の紫外線損傷がクロマチンにおよぼす影響を構造生物学的解析や細胞生物学的解析によって明らかにする。