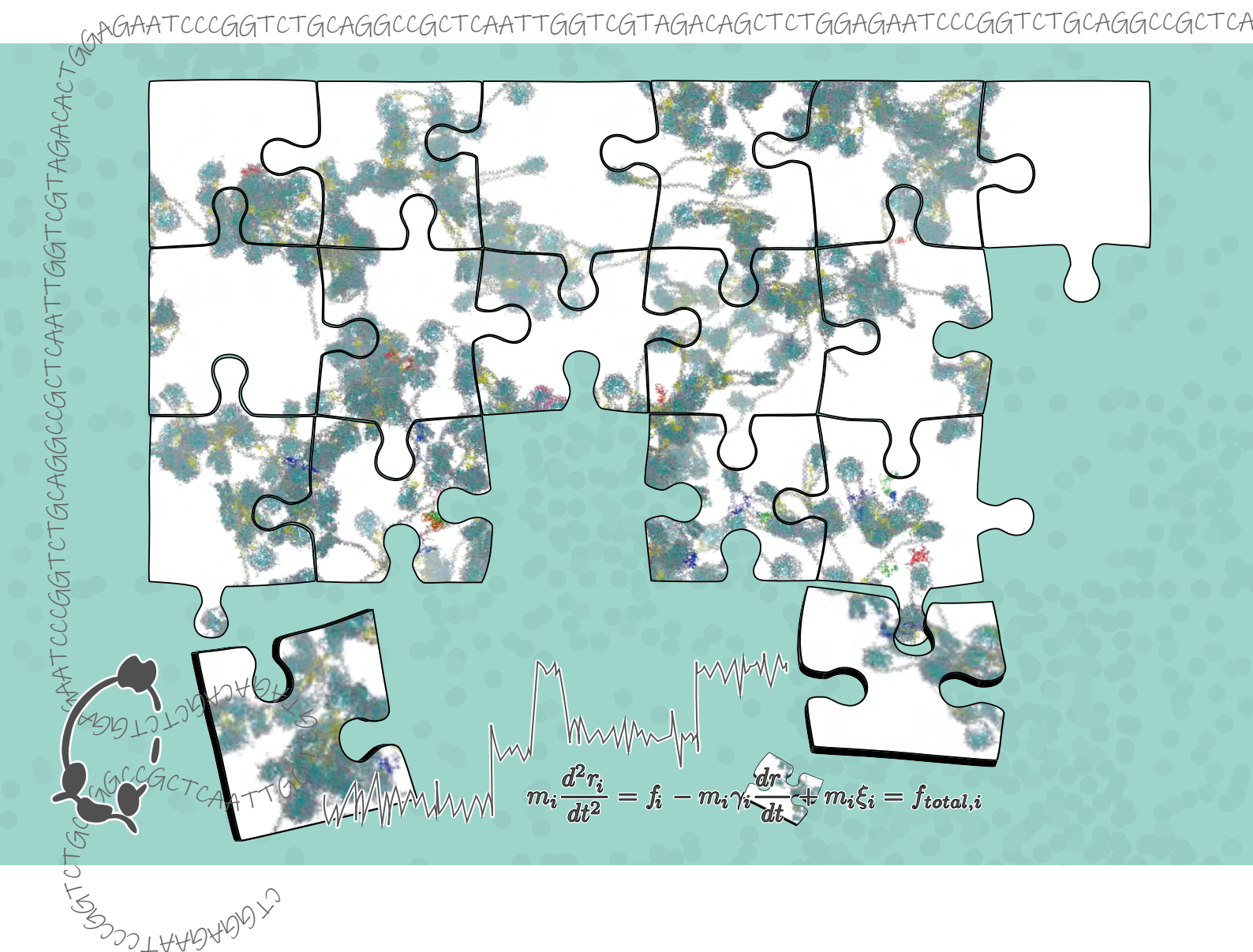


News Letter



Contents

- 1 成果紹介
- 2 SMCこぼれ話 (その2)
- 3 私の三内物語 (その2)
- 4 研究室紹介
- 5 お知らせ

03

2022 September



1 成果紹介

がんバイオマーカーmiRNAのパターンを判定できる DNA 液滴コンピュータ

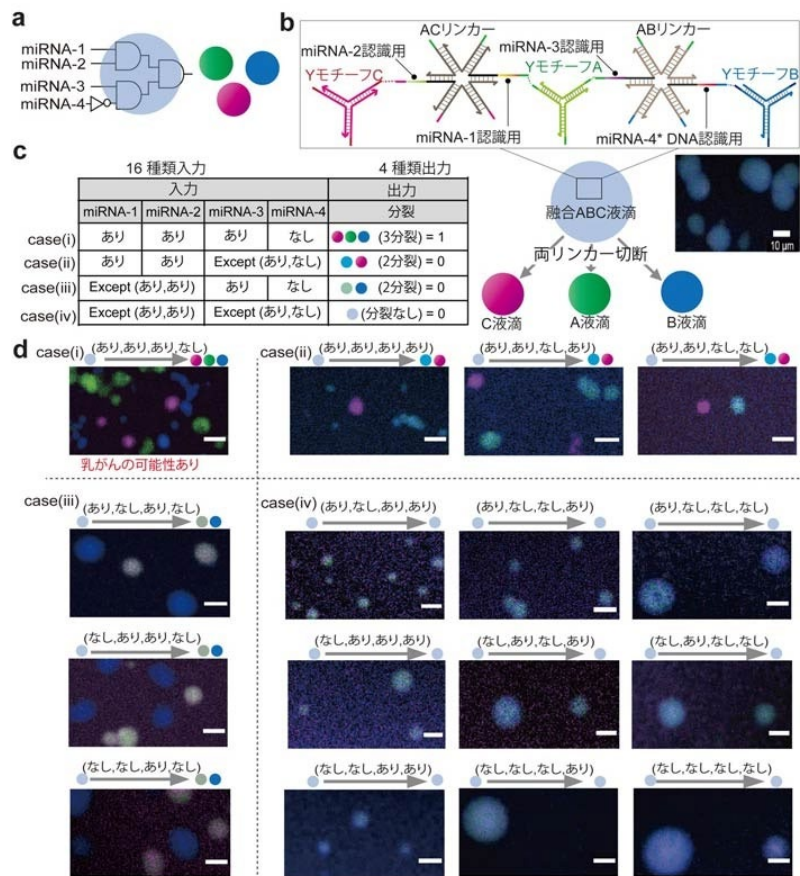
A01-2 瀧ノ上正浩 (東京工業大学)

論文 : Jing Gong, Nozomi Tsumura, Yusuke Sato, Masahiro Takinoue*, "Computational DNA Droplets Recognizing miRNA Sequence Inputs Based on Liquid-Liquid Phase Separation", *Advanced Functional Materials*, 2202322 (2022) (in press). DOI: 10.1002/adfm.202202322

タンパク質、DNA、RNA などの生体高分子は、細胞内において液-液相分離によって液滴やゲルの集合体を形成することが知られている。当研究グループでは、ナノスケールの DNA のモダリティの一つとして、DNA ナノ構造によって形成される相分離液滴 (DNA 液滴) に着目し、DNA 液滴の物性の解明と機能性 DNA 液滴への応用について研究を進めてきた。

本研究では、DNA の塩基配列を適切に設計することで、バイオセンシング機能に併せてコンピュータのような論理演算機能を DNA 液滴に持たせられると考え、がんバイオマーカーであるマイクロ RNA (miRNA) のパターンの検出に DNA 液滴を応用することを試みた (下図)。今回、「がんと診断されない場合には形成された液滴形状が維持され、がんと診断される場合には液滴が分裂する」という機能の実現

を目的とし、液滴を形成する Y 字型 DNA ナノ構造 (Y-motif) を設計した。一般に、より正確ながん診断のためには、複数の miRNA の有無やその組み合わせパターンを判断することが求められるため、hsa-miR-1307-3p (miRNA-1)、hsa-miR-1246 (miRNA-2)、hsa-miR-6875-5p (miRNA-3)、hsa-miR-4634 (miRNA-4) のパターンを計算できるようにした。具体的には、3 種類の DNA 液滴 A, B, C を形成できる Y-motif A, B, C を設計し、A と C の間のリンカー DNA (図中の 6 分岐 DNA motif) と A と B の間のリンカー DNA を用意し、DNA 液滴 A, B, C が融合した融合 ABC





CTGAGAGAAATCCCAGGCTCGCAGGCCGCTCAATTGGTCGTAGACAGCTCTGGAGAATCCCAGGCTCTGCAGGCCGCTCAATTGGTCGTAGACACTGGAGAATCCCAGGCTCGCAGGCCGCT

液滴を構築した。ここで、miRNA-1 と miRNA-2 が両方存在するとき、AND 演算により AC の間が分裂するようにした。また、miRNA-3 が存在し、かつ miRNA-4 が存在しない場合に AB の間が分裂するように、NOT 演算と AND 演算を組み合わせた演算を構築した。顕微鏡観察の結果、実際に、(miRNA-1 : あり, miRNA-2 : あり, miRNA-3 : あり, miRNA-4 : なし) (つまり、入力=(1,1,1,0)) の時のみ、融合 ABC 液滴は 3 つの液滴に分裂し、乳がんの可能性あり (つまり、出力=1) となった。この結果から、DNA 液滴コンピュータが、乳がんを検出するための $((miRNA-1 \wedge miRNA-2) \wedge (miRNA-3 \wedge \neg miRNA-4))$ という論理演算 (\wedge は AND、 \neg は NOT) を行う能力を有することが示された。

この技術は、miRNA を検出するツールの多様性を高めるだけでなく、発展させれば、mRNA やタンパク質の検出にも応用できると考えられる。また、外部情報に応答し、自律的に判断し、移動・機能する「自律型分子ロボット」の構築にも役に立つと考えられる。

コアプロモーターを介した転写バースト制御

(公募研究班) 深谷雄志 (東京大学)

論文 : Moe Yokoshi, Koji Kawasaki, Manuel Cambón, Takashi Fukaya*, "Dynamic modulation of enhancer responsiveness by core promoter elements in living Drosophila embryos", *Nucleic Acids Research*, 50, 92–107, DOI: 10.1093/nar/gkab1177

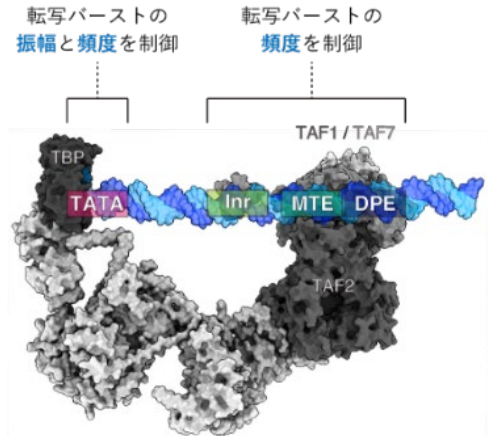
転写制御において中心的な役割を担うのは、エンハンサーやコアプロモーターと呼ばれるゲノム中の調節領域です。エンハンサーは、配列特異的な転写因子やコアクティベーターとの結合を介して、転写活性の時空間的な特異性を決定する役割を担っています。一方でコアプロモーターは基本転写因子との結合を介して、転写反応を触媒する RNA ポリメラーゼ II を呼び込むための足場となる重要な機能を果たしています。我々は以前、エンハンサーが「転写バースト」と呼ばれる転写活性の不連続性を緻密に変化させることで、ショウジョウバエ初期胚における遺伝子発現量を時間的・空間的に調節していることを明らかにしました (Fukaya et al., *Cell* 2016; Fukaya, *Curr Biol* 2021)。しかし、転写バースト制御におけるコアプロモーターの役割についてはこれまで十分に理解されてきませんでした。

コアプロモーターは、遺伝子の転写開始点を含む 80 塩基程度の DNA 領域であり、TATA-box (TATA) や Initiator (Inr)、Motif 10 element (MTE)、Downstream promoter element (DPE) に代表される複数の配列モチーフから構成されています。この配列モチーフは、TFIID と呼ばれる基本転写因子によって直接認識されることが、近年の Cryo-EM 解析により示されています (図; Louder et al., *Nature* 2016; Patel et al., *Science* 2018; Chen et al., *Science* 2021)。興味深いことに、ショウジョウバエからヒトに至るまで、コアプロモーター中に含まれる配列モチーフの構成は遺伝子ごとに大きく異なっていることが知られています。しかし、こうした違いがどのように転写動態に影響を及ぼすのかという時間的側面からの理解は大きく遅れていました。そこで本研究では、MS2/MCP 転写ライブイメージングと定量画像解析技術を組み合わせることにより、転写バースト制御における各コアプロモーター配



CTGGAGAATCCCAGTCTGCAGGCCGCTCAATTGGTCGTAGACAGCTCTGGAGAATCCCAGTCTGCAGGCCGCTCAATTGGTCGTAGACACTGGAGAATCCCAGTCTGCAGGCCGCT

列モチーフの機能を直接可視化する新たな一細胞解析システムを開発しました。詳細な解析の結果、TATAは転写バーストの「頻度」と「振幅」の両方を増大させる役割を担っている一方で、Inr・MTE・DPEは主に転写バーストの「頻度」の調節に寄与しているという機能的な使い分けが存在することが初めて明らかになりました(図)。さらに、ゲノム編集技術を用いてfushi tarazuと呼ばれる初期発生遺伝子の内在コアプロモーターに特異的な変異を導入したところ、先ほどの結果と一致して転写バーストの振幅や頻度がTATAやDPEによって異なる形で調節されていることが明らかとなりました。重要なことに、TATAやDPEに変異が生じるとfushi tarazu遺伝子の時空間的な発現パターンが大きく乱れ、結果としてショウジョウバエ初期胚における体節構造の形成に致命的な異常が生じることも示されました。以上の結果は、各遺伝子のコアプロモーター配列の違いが、個体発生における遺伝子発現動態を制御する上で、従来考えられてきたよりも積極的かつ多面的な働きを担っていることを示唆しています。



図：本研究により明らかとなったコアプロモーターを介した転写バースト制御機構
TFIIDを灰色、コアプロモーターを青色で示す (Cryo-EM Data: EMD-9306)

DNAの粗視化

(公募研究班) 坂上貴洋 (青山学院大学)

論文：Y.A.G. Fosado, F. Landuzzi and T. Sakaue, "Coarse-graining DNA: Symmetry, non-local elasticity and persistence length" DOI: arXiv:2206.01504v1

「DNA(もしくはクロマチン)の物性と遺伝子発現は密接に関連しているだろう。」

この考え自体は特に新しいものではないだろうが、そのような視点から細胞内の現象を理解しようという機運は、10年前と比べて随分高まってきたように思う。ここではDNAの物理的振る舞いを記述するモデルが必要となるが、遺伝子発現の制御は様々な階層で行われているので、着目する現象に応じて、DNAを記述するモデルも異なってくるのが自然だ。

例えば、転写因子の結合や、ヌクレオソームの安定性などで問題となるDNAとタンパク質の相互作用を記述するには、塩基対スケールの詳細を考慮したモデルが必要となるが、このような目的に適したモデルとして剛体塩基対モデル(rigid base-pair)が知られる(図1右)。これは、塩基対を並進と回転の自由度のみを持つ板として記述するもので、全原子シミュレーションに比べると

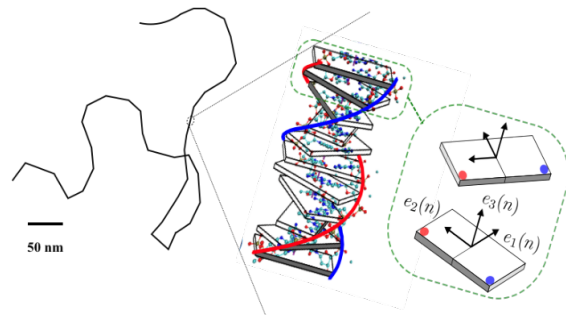


図1：DNA分子の階層構造

CTGGAGAATCCCAGTCTGCAGGCCGCTCAATTGGTCGTAGACAGCTCTGGAGAATCCCAGTCTGCAGGCCGCTCAATTGGTCGTAGACACTGGAGAATCCCAGTCTGCAGGCCGCT





CTGAGAGAATCCCAGGTCTGCAGGCCGCTCAATTGGTCGTAGACAGCTCTGGAGAATCCCAGGTCTGCAGGCCGCTCAATTGGTCGTAGACACTGGAGAATCCCAGGTCTGCAGGCCGCT

大幅に自由度は削減されているものの、10 bp 程度の短い DNA 鎖の記述に数百もの物性パラメータを要する。ところが、もっと大きなスケールでの DNA の振る舞いは、ずっと単純なモデル、例えば、みみず鎖モデル(worm-like chain)で十分よく記述され、それは唯一の物性パラメータとして曲げ弾性定数を持つ(図1左)。曲げ弾性定数を熱エネルギーで割った量は長さの次元を持ち、持続長と呼ばれる。

では、これらの異なる階層におけるモデルの間関係はどうなっているのか？ 今回、この問いに答えるべく、剛体塩基対モデルを系統的に粗視化する理論的手法を定式化した[1]。

その結果として、剛体塩基対モデルの(多数の)物性値から、みみず鎖の物性値(持続長)を求める公式を導出した。また、DNA 二重螺旋の力学特性は長さ依存性を持ち、10 bp 程度以下の短かなスケールでは、持続長から想定される力学特性よりも柔らかく振舞うことを明らかにした。これは、DNA が単なる弾性棒ではなく、内部構造を持った分子であることに由来する。高分子の内部構造とスケールに依存する力学特性の関係は DNA 以外の(生体)高分子にも関連する可能性のある興味深い問題であるが、理論的には未解明の部分も多い[2]。DNA 二重螺旋の変形では、ねじれと曲げ、もしくは伸長が互いに相関している(twist-bend coupling, twist-stretch coupling)ことが知られ、また、単に曲げといっても、螺旋の溝方向への曲げと、それに直交する方向では曲がりやすさが違う(曲げの異方性)。塩基対レベルで起こるタンパク質との相互作用も、このような DNA のユニークな力学特性をフル活用していると考えられるが、そこにも一般的な法則があり、それは DNA 二重螺旋の構造的特徴(キラル対称性の破れと、主溝/副溝の非対称性)に由来する。そして、この法則性は DNA の粗視化の過程にも一定の制約を課す。これはとても基礎的な知見であるが十分認識されているとは言えず、今後、DNA の分子構造と物性との関係を明らかにし、そこからゲノムの機能を議論していく上でも重要となることが期待される。

参考文献

- [1] Y.A.G. Fosado, F. Landuzzi and T. Sakaue, arXiv:2206.01504v1“Coarse-graining DNA: Symmetry, non-local elasticity and persistence length”
- [2] M. Segers, A. Voorspoels, T. Sakaue and E. Carlon, J. Chem. Phys. 156 234105 (2022).“Mechanical properties of nucleic acids and the non-local twistable wormlike chain model”

◆解説◆ 持続長

高分子は、単量体が連なった長い鎖状の分子であり、数学的には(3次元空間内の)曲線として記述される。長さがL(一定)の曲線において、始点でs=0、終点でs=Lとなるように曲線に沿って等間隔で目盛りをつけ、曲線上の点sにおける曲線の向き(接線ベクトル $\vec{t}(s)$)を考える(図2)。曲線上の二点sとs+Δsにおける向きを比べると、曲線に沿った二点間の距離Δsが十分小さければ、それらはほぼ同じ向きを向いているだろう。しかし、高分子の形態は熱揺らぎの中でくねくねと揺らいでいるので、Δsが離れるにつれ、向きについての相関は失われていくだろう。この高分子の向きについての相関がどの程度保たれるかを表す特徴的な長さ l_p を持続長(persistence length)という。硬い(柔

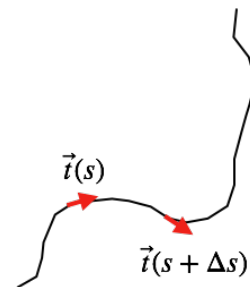


図2 高分子(曲線)上の接線ベクトル

い(柔

CTGAGAGAATCCCAGGTCTGCAGGCCGCTCAATTGGTCGTAGACAGCTCTGGAGAATCCCAGGTCTGCAGGCCGCTCAATTGGTCGTAGACACTGGAGAATCCCAGGTCTGCAGGCCGCT





CTGAGAGAATCCCAGGTCTGCAGGCCGCTCAATTGGTCGTAGACAGCTCTGGAGAATCCCAGGTCTGCAGGCCGCTCAATTGGTCGTAGACACTGGAGAATCCCAGGTCTGCAGGCCGCT

らかい) 高分子では持続長は長く(短く)なることからわかるように、持続長は曲げ弾性と関係付けられ、高分子の物理的振る舞いを考える上で重要な物性パラメータである。持続長とよく似た量として、クーン長(Kuhn segment length) l_k が知られる。持続長とクーン長の関係は高分子のモデルに依存するが、DNAのメソスケールでの力学特性をよく記述するみみず鎖(worm-like chain)モデルでは、 $l_k = 2l_p$ となる。二重螺旋DNAの持続長は、通常の生理的条件下では $l_p \approx 50 \text{ nm} \approx 150 \text{ bp}$ であり、二重螺旋の直径 2 nm に比べてずっと長い。したがって、数十塩基対のスケールでは、DNAは硬い棒状分子のように振る舞うが、数千塩基対以上の大きなスケールでは、屈曲性に富んだ柔らかなひも状の振る舞いをする。一方、一本鎖DNAや一本鎖RNAでは、 $l_p \approx 1 \sim 2 \text{ nm}$ 程度と報告されており、DNA(やRNA)が二重螺旋構造を取ることが硬さに大きく影響していることがわかる。その他、リン酸基間の静電反発の効果もあるので、持続長は塩濃度にも依存し、低塩濃度側で増大する。クロマチンの持続長については諸説あり、文献では $l_p \approx 50 \sim 100 \text{ nm}$ 程度を中心に、短いものでは $\sim 20 \text{ nm}$ 、長いものでは $\sim 300 \text{ nm}$ という議論もある。これは、ヒストンの修飾状態や、リンカーヒストンの有無なども含め、クロマチンの構造自体が条件に応じて非常に可変であることを反映しているものと考えられる。

熱的に駆動されるクロマチンループ生成のダイナミクス

(公募研究班) 横田宏 (理研 iTHEMS)

論文: H. Yokota* and M. Tachikawa, "Evaluation of loop formation dynamics in a chromatin fiber during chromosome condensation", Prog. Theor. Exp. Phys. 2022, 053J01 (2022).

染色体凝縮は、コンデンシンがクロマチンループを形成する動力学によって説明されることが多い。しかし、ループ形成のミクロな機構は、まだ明らかになっていない。ミクロな機構としては、二つの仮説が考えられる。一つ目は、コンデンシンのATP加水分解を伴うモータ活性[1]によるdirect power strokeである。ところが、direct power strokeの詳細(どのようにコンデンシンがループを作るか?など)は、まだ明快ではない。

二つ目の説は、熱ゆらぎを駆動力として、ループを成長させる説である[2]。その詳細は図1に示される。この機構では、二つのクロマチンセグメントが、コンデンシンのヘッド付近に付着している状態を考える(図1左上)。そこで、熱ゆらぎによって、新たなセグメントがコンデンシンのヒンジ付近に近づき付着する(図1右上)。その後、コンデンシンのヘッド付近からセグメントを脱落させ、ヒンジ付近のセグメントをヘッドに輸送する(図1下)。このプロセスを繰り返してループが

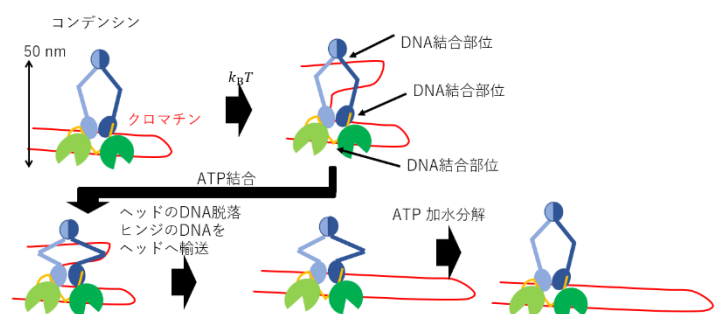


図1. 熱ゆらぎによるループの成長機構の詳細[2].





CTGAGAGAATCCCAGTCTGCAGGCCGCTCAATTGGTCGTAGACAGCTCTGGAGAATCCCAGTCTGCAGGCCGCTCAATTGGTCGTAGACACTGGAGAATCCCAGTCTGCAGGCCGCT
成長する。今までは、この機構で作られるループの長さについては、着目されていなかった。

そこで、我々は、この熱的な機構に基づいた染色体凝縮の理論モデルを構築し、ループの長さを見積もった。このモデルでは、コンデンシンのサイズを無視できるほど大きい空間スケールにおいて、ループ成長の動力学を記述する繰り返し写像を与える (図 2 上側)。この繰り返し写像は、密度と排除体積との関係、ループの自由エネルギー、密度とループの長さとの関係によって構成される。

このモデル計算によれば、ループは、1500 秒程度で、染色体の典型的なクロマチンループの長さ (24 μm) を超える(図 2 左下)。有糸分裂は 3600 秒程度なので、この結果は、熱ゆらぎを用いた機構によって、染色体のクロマチンループが形成されることを示唆するかのように見える。

一方で 単位時間当たりのループ成長の平均は、時間とともに減少し、ループの長さが 24 μm の長さに達する前にコンデンシンサイズ (50 nm)未満となる (図 2 右下)。この時点で、コンデンシンサイズが無視できなくなり、コンデンシンの形や大きさを明示的に取り扱う必要がある。図 1 で示した成長機構において、ループ成長がコンデンシンサイズ程度ということは、クロマチン上を“歩く”動力学を導き、direct power stroke と呼べるものとなる。

したがって、染色体凝縮では、熱的な機構によってループが作られうることを示された。ただし、この機構は、染色体凝縮が進むにつれて、direct power stroke と呼ぶべきものへと接続される。つまり、熱的な機構と direct power stroke とによる switching 機構で、染色体のループが成長することが示唆される。

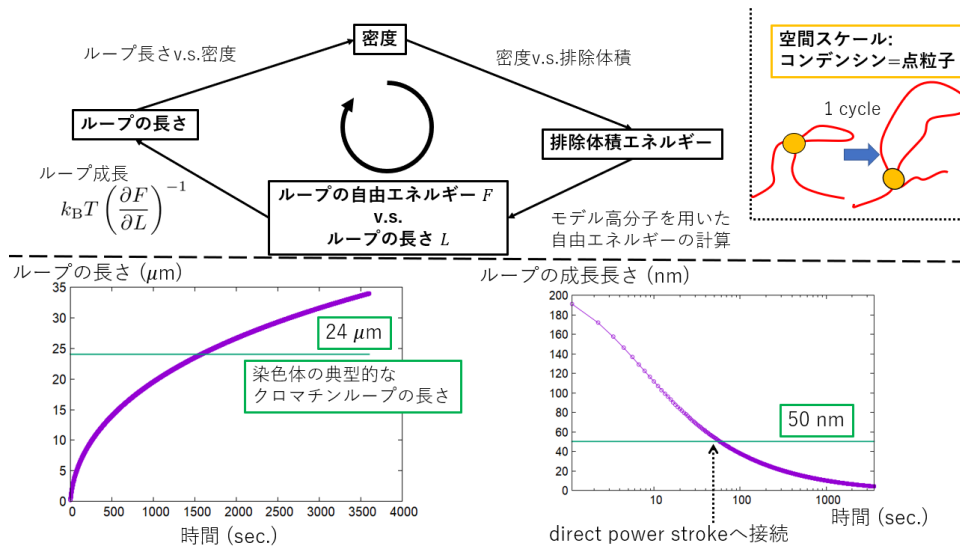


図 2. 熱ゆらぎ説に基づくモデル(上)と計算結果(下).

参考文献

- [1] T. Terakawa, et al., Science 358, 672 (2017).
- [2] J. F. Marko, et al., NAR 47, 6956 (2019).

◆解説◆ エントロピー弾性と排除体積が形に及ぼす影響

クロマチン動態や染色体凝縮などの現象を理論的に表現する際、クロマチンや DNA の高分子を単なる鎖として取り扱い[1, 2]、その形 (コンフォメーション)に着目する場合が多い。このような高分子の





CTGAGAGAATCCCAGGCTGCAGGCCGCTCAATTGGTCGTAGACAGCTCTGGAGAATCCCAGGCTGCAGGCCGCTCAATTGGTCGTAGACACTGGAGAATCCCAGGCTGCAGGCCGCT

形は、自由エネルギーと呼ばれる量を用いて特徴づけることができる。自由エネルギーは、その形を作るのに必要なエネルギーに対応しており、エントロピー（乱雑さ）の寄与と内部エネルギー（相互作用エネルギーの平均）の寄与とが含まれる。ここでは、高分子の形状に対するエントロピーの寄与と相互作用の影響とを紹介する。

高分子の様々なコンフォメーションはエントロピーを導く。高分子の取り得る形の数が多いほど、エントロピーも大きいためである。一般に、エントロピーが大きいほうが安定となる。したがって、高分子の取り得るコンフォメーションが少なくなるような変形を課した際には、元に戻そうとする力（弾性力）が働く。このように、エントロピー変化に由来する弾性をエントロピー弾性と呼ぶ。例えば、高分子のループを作った際、端点が固定されるため、取り得る状態数が減る。すなわち、端点が自由な状態に比べ、ループ構造のエントロピーは減るため、ループさせた高分子には、元に戻ろうとする力が働く。つまり、クロマチンやDNAのループを形成しているSMC complexは、少なくともこの弾性力に打ち勝つだけのエネルギーをクロマチンやDNAに与えることで、ループ状態を維持、成長させると思われる[2, 3]。

高分子のコンフォメーションを考える上では、相互作用エネルギーの効果も重要となる。高分子をビーズの連なりによってモデル化したとき、ビーズ間に働く相互作用に応じて、高分子の空間分布は変化するためである。この相互作用は、斥力と引力との競合で記述される。斥力は、ビーズが互いに重なることができない効果による。引力は塩濃度などの高分子の周囲の環境によって現れうる。このようなビーズ間の相互作用は、正味の斥力の強さを表すパラメータ（排除体積パラメータ） $v \propto 1 - \theta/T$ を用いて特徴づけることができる。ここで、 T は温度であり、 θ はシータ温度と呼ばれ、環境の性質に依存して決まる量である。 $v > 0$ では、斥力の寄与が引力に比べて大きく、高分子の空間分布は広がったものとなり、 $v < 0$ となる状況では、引力の寄与が斥力に打ち勝ち、高分子は縮んだ空間分布を示す。 $v > 0$ の状況にある溶媒を良溶媒とよび、 $v < 0$ の状況にある溶媒を貧溶媒とよぶ。 $v = 0$ となる状況（シータ溶媒）では、引力と斥力とが釣り合っている。 v は温度や塩濃度などの環境に依存しており、これらを変化させることで、高分子の広がった分布（coil）と縮んだ分布（globule）との転移が観測できる[4]。DNA溶液では、塩濃度を変えることで、シータ温度を制御することができるため、塩濃度依存的な coil-globule 転移が実現される[5]。

細胞内における現象を考える上で、生体高分子のコンフォメーションの変化が重要な要素の一つである。このような細胞内の現象を詳細に議論するための第一歩は、コンフォメーションやその変化を定量的に特徴づけることである。そのための変数やパラメータの候補が、今回紹介した相互作用パラメータやエントロピー（あるいはそれら両方を含む自由エネルギー）となる。

参考文献

- [1] A. Goloborodko et al., eLife 5, 14864 (2016).
- [2] A. Bonato et al., Soft Matter 16, 2406 (2020).
- [3] H. Yokota and M. Tachikawa, Prog. Theor. Exp. Phys. 2022 (2022).
- [4] 田中文彦: 高分子の物理学, 裳華房 1994.
- [5] K. Yoshikawa et al., Phys. Rev. Lett. 76, 3029 (1996).



2 SMC こぼれ話 (その2)

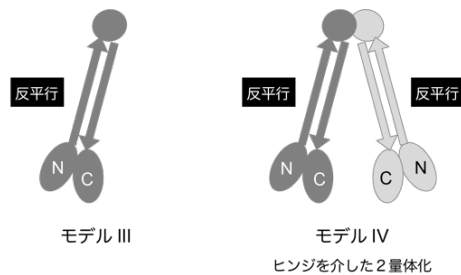
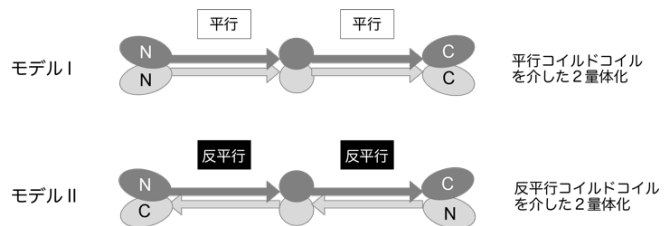
コイルドコイル、平行それとも反平行？

A02-3 平野達也

1993年に初めて明らかにされたSMCタンパク質の一次構造は極めて特徴的なものでした (Strunnikov et al., 1993)。N末とC末、そして中央部に保存領域があり、それらは長いコイルドコイルを形成しうる配列で連結されていたのです。N末の保存領域にはP-loop (Walker A) と呼ばれるATP結合モチーフが認められました。N末のATP結合部位と長いコイルドコイルというのは、キネシンやミオシン等、いわゆるモーター・タンパク質に特徴的な一次構造です。現在一部の研究者は誤解しているようですが、SMCが何らかのモーター活性を通して染色体構築に関与しているのではないかという推測は、分野の勃興期からすでに存在したのです (Peterson, 1994)。実際、私たちのグループによるスーパーコイルング活性の発見は、モーター仮説をもとにデザインした実験から生まれたものでした (Kimura and Hirano, 1997)。

さて、私たちはカエルのSMC2とSMC4が卵抽出液中でヘテロダイマーを形成していることを見出しましたが (Hirano and Mitchison, 1994)、在来型モーターの例に倣って、平行コイルドコイルを介して2量体化することを想定していました (モデルI)。しかし同時期に発表された一連の論文の一つでは、早くも反平行のアイデアが提示されています (Saitoh et al., 1994)。そこでは、2つのモノマーが反平行コイルドコイルを介して2量体化する可能性 (モデルII) と1つのモノマーが反平行コイルドコイルを介して折れ畳まれる可能性 (モデルIII) が示唆されました。これらは、ABCトランスポーターのアナロジーから、N末とC末の保存領域が近接することによって1つのATP結合部位を形成するのではないかと推測から導かれたモデルです。今から振り返っても鋭い洞察だったわけですが、当時の私にはには信じられませんでした。それまで報告されている反平行コイルドコイルの例は、せいぜい数十アミノ酸長のもので、200-300アミノ酸長におよぶ長大な例は知られていなかったからです (Hirano et al., 1995)。

しかし、1997年に発表された論文 (Sutani and Yanagida, 1997) に目を通して、「あれっ?」と思ったことを記憶しています。分裂酵母のSMC2とSMC4を材料とした生化学解析の報告ですが、そこに示されたデータを素直に解釈すると、SMCモノマーは溶液中で安定に存在することができ、それを適切なパートナーと混合すれ





CTGAGAGAATCCCAGGTCTGCAGGCCGCTCAATTGGTCGTAGACAGCTCTGGAGAATCCCAGGTCTGCAGGCCGCTCAATTGGTCGTAGACACTGGAGAATCCCAGGTCTGCAGGCCGCT

3 私の三内物語（その2）

(アドバイザー) 田中智之

西山さんから、東大医学部第三内科（三内）について書いてくださいと依頼されたのですが、この話題って本当に、みなさんにとって興味深いのでしょうか？田中耕三先生が、前回のニュースレターで、当時（1990年代）の三内の様子をすでにまとめられたので、本稿は、主に私の感想文になります。当時、三内であれほど研究が盛んになったのは、高久文麿教授（当時）が、留学から帰ったばかりの優秀な若手を、それぞれ研究グループ長に抜擢され、臨床研究に分子生物学的手法を使うことを奨励されたからだときいています。当時、臨床の研究室としては、これは画期的なことで、最先端の研究に多くの人材と研究資金が集まることになりました。小川誠司先生、耕三先生、私は、平井久丸先生の率いる血液グループで、臨床と研究に励みました。当時の研究室は、一昔前の病棟をほぼそのまま利用したもので、今思うと、あの狭い研究室で、よくあれだけの人数が働き研究成果が出せたものと感心します。もし、研究室の面積あたりの論文数と引用数の世界ランキングがあれば、上位にランクインしていたかもしれません。三内血液グループで研究できてよかったことは、かなり自由に研究テーマを選ばせてもらったのと、豊富な臨床検体にアクセスできたことです。それに、研究グループの中で、臨床研究をしたい人から基礎研究を目指す人まで様々であったにもかかわらず、よく議論ができて協力し合えたことです。これは、高久教授や平井先生のリーダーシップによるところが大きいですが、臨床のサービスを提供するためには協力することが不可欠ですから、それが研究で協力することにも活かされていたと思います。私は、病態を理解するためにも、まずは正常な細胞の機能を理解したいと考えていましたので、研究グループの中では、基礎研究志向派でした。その当時は、細胞周期の研究、特にサイクリンやCDKの機能について重要な発見が相次いでおり、留学する際は、その下流にあたる染色体の複製と分配の研究を選びました。その後、イギリスで自身のラボを立ち上げ、臨床に戻ることなく、この分野で基礎研究を続けて今日に至ります。イギリスでは、歴史的に基礎研究が重視され、それは基本的には今も変わりません。しかし、ここ数年は、研究費の配分や大学院生の配置などで、Translational Research、すなわち基礎研究の成果を臨床に応用する研究が強く奨励されるようになってきました。世界に先がけて、オックスフォード大のグループがコロナワクチンの開発に成功したのは、その成果ともいえます。私のグループも、がんのバイオマーカーの開発で、臨床の研究室と共同研究を始めようとしています。もとは、臨床の研究室から基礎研究に進んだ私の経歴を考えると、一部の研究テーマで、一周してまた臨床研究に戻りかけているのはおもしろいです。昔の経験を生かして、Translational Researchにも新たな貢献ができればと思っています。



CTGAGAGAATCCCAGGTCTGCAGGCCGCTCAATTGGTCGTAGACAGCTCTGGAGAATCCCAGGTCTGCAGGCCGCTCAATTGGTCGTAGACACTGGAGAATCCCAGGTCTGCAGGCCGCT



4 研究室紹介

(公募研究班) 西村芳樹 (京大・植物分子遺伝学研究室)

私たちは葉緑体やミトコンドリアがもつ独自の染色体「葉緑体/ミトコンドリア核様体」について研究をしています。葉緑体やミトコンドリアには、独自のDNA（葉緑体/ミトコンドリアDNA）および遺伝子発現系が維持されており、これらは電子伝達複合体やrRNA, tRNAなどの発現を担うことで光合成や呼吸を可能とし、真核生物の生命を支えています。

教科書では葉緑体/ミトコンドリアDNAが裸で浮いている図がよくみられます。しかし実際には、葉緑体/ミトコンドリアDNAは多様なタンパク質と結合して「核様体」とよばれる構造を形成しています。核様体は葉緑体/ミトコンドリアDNAの複製、修復、遺伝子発現、遺伝の要です。私たちは、この核様体の細胞分裂や有性生殖における維持/遺伝機構について研究を進めてきました。

モデルとして扱ってきたのは単細胞緑藻クラミドモナス(*Chlamydomonas reinhardtii*)です。クラミドモナスは直径10µmほどの小さな単細胞生物で、1細胞あたり1個の葉緑体をもち、2本の鞭毛で泳ぎ回ります。Chlamyという愛称でよばれ、そのイラストやTシャツ、缶バッジ、刺繍などをつくる人も多いです。

クラミドモナスの1葉緑体には約80コピーの葉緑体ゲノム(205 kb)が存在し、それらが5~10個の球状核様体にまとめられています。最近私たちは、細胞分裂における葉緑体核様体のうごきを捉えることに世界で初めて成功しました (Kamimura et al., *Comms Biol* 2018)。球状核様体は、分裂が近づくと葉緑体全体に拡散し、分裂が完了するとまた球状構造へと戻ります。私たちはこうした核様体のうごきが均等分配を実現するためのものであると提唱し、その重要な担い手として葉緑体型 Holliday junction resolvase (Kobayashi et al., *Science* 2017)や、HMG box 遺伝子 (Takusagawa et al., *Proc Natl Acad Sci USA* 2021) の同定に成功してきました。今後、ライブイメージング技術を主軸として、核様体の構造やそのダイナミックな動態を解き明かしていきたいと考えています。



図1 Chlamyグループの人々

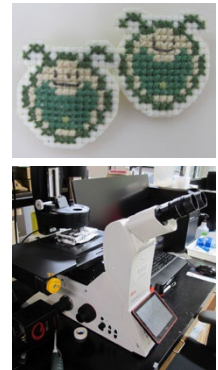


図2 (上) Chlamy 刺繍 (下) ライブイメージングに活躍する顕微鏡 (Leica, Thunder)

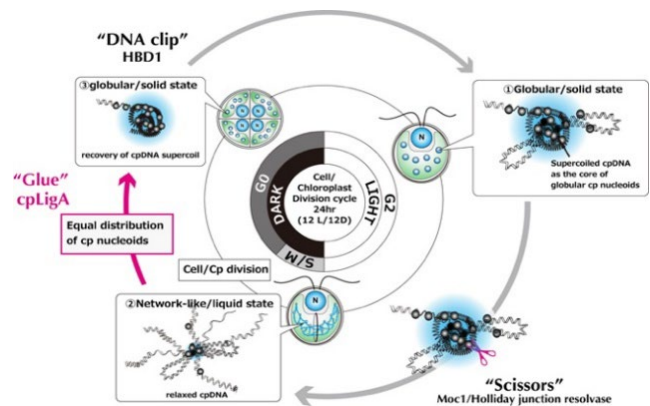


図3 葉緑体核様体の分裂モデル





CTGAGAGAATCCCAGGTCTGCAGGCCGCTCAATTGGTCGTAGACAGCTCTGGAGAATCCCAGGTCTGCAGGCCGCTCAATTGGTCGTAGACACTGGAGAATCCCAGGTCTGCAGGCCGCT

参考文献

Kobayashi et al., Science 356, 631-634, 2017; Kamimura et al., Comms Biol 1:47, 1-7, 2018; Takusagawa et al., NAS 118, e2021053118, 2021.

5 お知らせ

学術変革領域 (A)の公募研究のお知らせ

DNA の物性から理解するゲノムモダリティ

領域略称名：ゲノムモダリティ
 領域番号：20A305
 設定期間：令和 2(2020)年度～令和 6(2024)年度
 領域代表者：西山 朋子
 所属機関：名古屋大学大学院理学研究科

① 領域の概要

ゲノム DNA の構造と機能の理解は、塩基配列やヒストン修飾を基盤とするゲノム/エピゲノム制御といった情報の側面の理解と、ポリマーとしての DNA が持つ構造物的側面の理解の両輪から成る。本研究領域では、ポリマーとしての DNA の構造物的側面に着目し、DNA の情報的側面との関連性を明らかにすることを通して、ゲノムの構造と機能の理解を目指す。特に、塩基配列情報・DNA 物性・その他の環境諸因子により多元的に制御されるゲノムの構造や機能の様式を「ゲノムモダリティ」と定義し、ゲノムモダリティを通じた複眼的視点から真のゲノムの姿を理解することを目指す。そのため本研究領域では、物理学・計算科学・生命科学・医科学の各分野からの研究者の参画を必要とする。

本研究領域が扱う研究対象は、ナノスケールの DNA やヌクレオソームから、組織や個体のスケールに及ぶ。ゲノムモダリティを制御する要因としては、DNA の物性に加えて、核内や細胞内環境、広い意味でのタンパク質物性、液-液相分離を代表とする物理化学反応が想定される。本研究領域では、これらの要因がそれぞれのスケールでゲノムモダリティをどのように制御し、染色体やクロマチンの振る舞いを規定するのか、その制御がどのように細胞機能に直結し、そしてその破綻が発生異常や疾患を引き起こすのかを、理論・計測・実験的再構成・ゲノミクス等の異なる手法を用いて解明することを目指す。

本研究領域では、ゲノム構造の各階層に応じて三つの研究項目 (A01、A02、A03) を設ける。研究項目 A01 では、高分子物理学に基づいたナノスケールゲノム構造形成原理の追求を行うとともに、周辺環境に応じた構造・機能制御原理を理解する。また、ナノスケールから高次ゲノム構造に至る各階層を理論的に連結するマルチスケール理論構築を行う。研究項目 A02 では、ヌクレオソームや DNA ループ構造、クロマチンファイバー/ドメイン構造を含むメソスケールのゲノム構造の形成・機能原理を DNA 物性的側面に着目して理解する。研究項目 A03 では、疾患・生理現象に関連する染色体レベルのマクロスケールのゲノム構造に対して、物理学に基づく形成・機能原理の理解を行う。

②公募する内容、公募研究への期待等

公募研究では、研究項目 A01 から A03 に対応するスケールでゲノム構造を明らかにする実験系・理論系の研究、さらに A01 から A03 をつなぐマルチスケール理論の構築を行う研究を募集する。研究項目 A01 では、ナノスケールの DNA 物性やゲノム構造と、それを制御するタンパク質物性を明らかにする研究や、そのための技術開発、数理モデルを用いてマルチスケールのゲノム構造理論を構築する研究を募集する。例えば、DNA やゲノムのソフトマター物理、Cryo-EM

CTGAGAGAATCCCAGGTCTGCAGGCCGCTCAATTGGTCGTAGACAGCTCTGGAGAATCCCAGGTCTGCAGGCCGCTCAATTGGTCGTAGACACTGGAGAATCCCAGGTCTGCAGGCCGCT





CTGAGAGAATCCCAGTCTGCAGGCCGCTCAATTGGTCGTAGACAGCTCTGGAGAATCCCAGTCTGCAGGCCGCTCAATTGGTCGTAGACACTGGAGAATCCCAGTCTGCAGGCCGCT
野で活躍する領域外の研究者の招待講演も実施してみたいという意見が若手研究者たちから出ています。
このような活動に参加してみたい若手研究者の方がいましたら、是非、計画班および公募班の研究室の先生方からのご推薦をお願いしたいと思います。本領域は、生命科学と工学の両方の研究者がいるため、異分野融合により新しいサイエンスを生み出す土壤があると考えています。このような活動を通し、次世代を担う若手が将来に渡って異分野交流できる関係を築けると良いと思っています。

会議など

■ 第3回ゲノムモダリティ領域会議

日時：2022年11月21日～23日

場所：修繕寺（予定）

■ 第3回ゲノム生物物理学セミナー（オンライン）

担当：寺川剛（京大）、山本哲也（北大）

登録サイト：<https://genomebiophys.connpass.com/event/255373/>

その他連絡事項

■ 領域代表より

論文やアウトリーチ、受賞などされたら、西山宛に Slack でもメールでも構いませんので連絡ください。

■ 異動

公募研究班の菅瀬先生が、京都大学 大学院農学研究科 応用生命科学専攻に教授に昇進されました。また、学術変革 B に採択され、ゲノムモダリティを卒業されました。おめでとうございます！

表紙画像提供：GOPI, Soundhara Rajan
(京都大学 大学院理学研究科 高田研)

哺乳類クロマチン構造の近原子解像度モデル

