

遺伝情報の取り出しを調節するクロマチン高次構造制御機構を解明

～幹細胞を用いた再生医療にとって効率的な細胞分化誘導系の構築へ～

ポイント

- ・ 遺伝子発現を高度に抑制するクロマチン高次構造体内部のヒストン動態制御機構を解明。
- ・ クロマチン高次構造体を安定維持するタンパク質による高次構造体識別機構を分子レベルで解明。
- ・ クロマチン構造制御を介した遺伝子発現制御機構の理解へ貢献。

概要

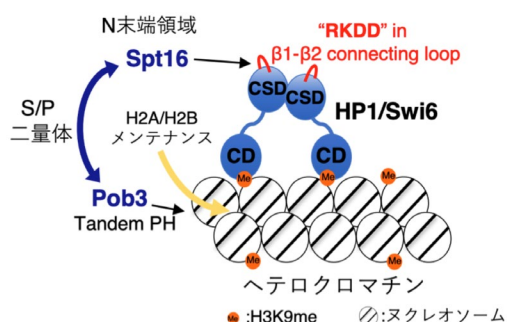
北海道大学大学院理学研究院の高畑信也特任講師、村上洋太教授らの研究グループは、遺伝情報の取り出しを制御するクロマチン高次構造制御機構の一端を明らかにしました。

ゲノム DNA¹は、ヒストンと呼ばれる塩基性タンパク質が巻き付いたヌクレオソームが連なっており、遺伝子が発現するかどうかはヌクレオソームの局所的な凝集度合いに大きく左右され、ヘテロクロマチン²化した場合は、その遺伝情報が読み取られません。酵母からヒトに至るまで、生命は種を通じて、ヘテロクロマチンを上手く使うことで不要な遺伝子の情報が読み取られないようにしているのですが、ヘテロクロマチン内のヒストンタンパク質がどのように動的制御を受けているのか、またこのヘテロクロマチンが一旦形成された後、ヌクレオソームレベルでどのように維持されているのかはいまだに解っていませんでした。

研究グループはクロマチン内のヒストンを抜き取ったり組み込んだりするヒストンシャペロン活性を持ち、クロマチン構造変換因子として知られる FACT (FAciLitate CHromatin TRanscription) 複合体の機能に着目して、分裂酵母を用いて FACT とヘテロクロマチンの関係を遺伝学的・生化学的に解析を行いました。この結果、FACT 複合体はヘテロクロマチン内のヒストン H2A/H2B の交換反応を行っていることがわかりました。また FACT 複合体は、少なくとも 2 つの独立した認識機構によってヘテロクロマチン上へ積極的かつ選択的に結合してくること、この 2 つのヘテロクロマチン認識機構を同時に欠損させた分裂酵母の変異株ではヘテロクロマチンが維持されなくなり、崩壊してしまうことが明らかとなりました。さらにそれに加えて、研究グループはヘテロクロマチンを形成する上で鍵となる因子、HP1/Swi6 タンパク質の変異体を多数単離して FACT 複合体がこの HP1/Swi6 をどのように認識するのかを解析し、認識メカニズムを分子レベルで明らかにしました。

今後、ES 細胞・iPS 細胞・体性幹細胞などから様々な細胞への分化が起きる時のクロマチン高次構造制御を通じた制御機構の理解に寄与するとともに、再生医療に向けた効率的な分化誘導系の構築に繋がる事が期待されます。

なお、本研究成果は、2021年8月18日(水)に Cell Reports 誌にオンライン公開されました。



FACT によるヘテロクロマチン識別機構とヘテロクロマチン内ヒストン H2A/H2B 制御

【背景】

細胞の持つ様々な性質は、ゲノム DNA 上に存在している遺伝子群の発現パターンによって決定されます。ヒトやマウスでは 25,000 個ほどの遺伝子がマッピングされていますが、全ての遺伝子が一律に発現しているわけではなく、細胞の置かれた環境や分化の状態によって発現する遺伝子群と発現しない遺伝子群はプログラミングに従って刻々と大きく変化する事が知られています。また遺伝子群の発現パターンは同一クローン間でも微妙に異なっている場合があり、それらは「生命の揺らぎ」と表現されたり、または遺伝学的「個性」と形容されたりしていて、生物がもつ環境適応能の基盤の一つと考えられています。この様に細胞へ多様性を与えるクロマチン制御の分子メカニズムはいまだに不明な点が数多く存在しており、生命科学分野における大きな疑問として研究が進められている状況です。

遺伝子群が発現するのかどうかを決定する大きな要因はクロマチンの折り畳み状態ですが、クロマチンを密な状態で折り畳んだヘテロクロマチンではその中に取り込まれた遺伝子群の発現が高度に抑制されることが知られています。このヘテロクロマチン化には、ヘテロクロマチンタンパク質 (HP1) が関係しており、安定化したヘテロクロマチン内で働くタンパク質群の中には FACT 複合体が含まれています (図 1)。現在までに報告されてきた FACT の機能は主に遺伝子発現を促進させるものであり、ヘテロクロマチン形成を手助けして、遺伝子の発現抑制に関わるための分子メカニズムに関しての知見は全くの皆無でした。

そこで研究グループは FACT 複合体の変異株を作成して FACT 複合体の機能を欠損させたときに、ヘテロクロマチンにどのような変化が起きるのかを遺伝学的・生化学的に解析を行いました。

【研究手法と成果】

研究グループは、ヒトやマウスと同様の等分配型細胞分裂を行う分裂酵母を用いて研究を進めました。分裂酵母は生殖細胞のような一倍体の生活環を持つ単細胞生物で、そのクロマチンはヒトやマウスのような高等真核生物の持つ複雑なクロマチン制御の中で最も重要なエッセンスによって制御されており、今までに染色体研究で数多くの実績を残しています。この分裂酵母の FACT 複合体がどのようにヘテロクロマチンのメンテナンスに関わっているのかを、FACT 複合体によるヘテロクロマチン内ヒストンの動態制御機構、ヘテロクロマチン認識機構、クロマチン高次構造体の質的な変化の三つの視点から研究を展開させました。

FACT 複合体は Spt16/Pob3/Nhp6 の三種類のタンパク質から構成されているのですが、2007 年のドイツの研究グループからの報告で分裂酵母の *pob3* 遺伝子を破壊した株では、理由はよくわからないのですが、ヘテロクロマチンがヒストン H3K9me と HP1 結合量がほとんど変化しないにも関わらず部分的に弛緩した状態になり、抑制されているはずの転写が脱抑制状態に変わることが報告されていました。

研究グループはまずこの理由を分子レベルで解明することに着手し、*pob3* 遺伝子を破壊した分裂酵母株ではヘテロクロマチン形成領域からヒストン H2A/H2B が部分的に抜け落ちてヘテロクロマチン内のヒストンがあたかも歯抜け状態になることで転写が脱抑制している事を発見しました。またこの部分的なヒストン H2A/H2B の抜け落ちは、外部から人工的にヒストン H2A/H2B を過剰に発現させてやる事で相補され、その結果、再び転写が抑制されるようになることを発見しました。これはヘテロクロマチン内でもヒストン H2A/H2B の交換反応が起きており FACT 複合体がヒストン H2A/H2B を安定に保持する方向に機能している事を示していて、従来から思われた以上にヘテロクロマチン形成領域内が動的な可塑性をもつことを裏付ける結果です (p1 図)。

続いて研究グループは、FACT 複合体がどのようにヘテロクロマチンを認識しているのかの解明に着手しました。現在までに転写活性化に関わる FACT 複合体は RNA 合成酵素である RNA polymerase II

や、転写活性化因子の SBF/MBF, Pdr1/Pdr3 と結合してクロマチン構造を一過的に弛緩させることがわかっていますが、ヘテロクロマチンのように転写を強く抑制するクロマチン構造をどのように認識しているのかについては全くわかっていませんでした。解析を進めて明らかになったのは、まず一般的な転写活性化に必要な Nhp6 タンパク質がヘテロクロマチン形成領域の転写抑制には関与しない事で、これは今までの FACT 複合体によるクロマチン構造制御から考えると想定外の結論でした。さらに解析を続けた結果、分裂酵母の HP1 ホモログである Swi6 の二量体化ドメインと Spt16 の N 末端領域が直接的に相互作用する事、Pob3 の中にあるヒストン H3/H4 認識ドメインがヒストン濃縮度の高いヘテロクロマチンを目掛けて選択的に結合する事がわかりました。そして、FACT はこの 2 つのヘテロクロマチン認証モードによってヘテロクロマチンを認識し結合していることを遺伝学的・生化学的に解き明かしました (p1 図)。特に HP1/Swi6 と Spt16 N 末端の結合に関しては、従来、HP1 結合に必須であると言われてきた PxVxL モチーフを Spt16 が持っていないことから、Spt16 が未知の Swi6 認識機構を持つことが想定され、実際に Charged Loop と名付けた Swi6 二量体の外側へ突出したアミノ酸が Spt16 による Swi6 結合に重要な役割を果たしていることが明らかになりました (図 2)。

最後に、この 2 つのヘテロクロマチン認証モードとして機能する Spt16 N 末端と *pob3* 遺伝子を同時に欠損した FACT 変異株を作成してヘテロクロマチンがどのように変化するかを観察したところ、ヒストン H3K9me の大きな減少、HP1/Swi6 の深刻な結合低下、FACT 自身の結合消失、ヘテロクロマチン内に存在する遺伝子発現の脱抑制が観察され、ヘテロクロマチン構造体が維持できなくなり消滅してしまうことが明らかとなりました。2007 年のドイツのグループの報告では *pob3* 遺伝子欠損状態のみの Spt16 がまだ部分的に機能している状態でヘテロクロマチン構造に変化が生じないと結論づけていましたが、我々の研究グループの結果から FACT 複合体が完全にヘテロクロマチン上で機能できなくなった場合には、ヘテロクロマチン構造を維持できなことを意味しており、クロマチン構造制御に果たす FACT 複合体の役割の多様さが改めて明らかになりました。

現在までに FACT 複合体は転写活性化因子と共役して機能する場合、クロマチン構造を閉じた状態から開いた状態に変える為に働く因子であると考えられてきましたが、研究グループが取り組んだ今回の研究は HP1/Swi6 と共役して働く FACT 複合体は Nhp6 を必要とすることなく、クロマチン構造を閉じた状態で安定に維持する為の重要な要素であることを示すものです。このように共役するパートナーが変わることでクロマチン構造に動的変化を与えたり、静的状態を維持するという、無駄の無い使い分け機構が分子レベルで解明できました。これは生命の置かれた環境の変化へ対応して迅速にクロマチン構造を切り替えて、遺伝子群の発現を調節するために極めて有利な戦略だと考えられます。

【今後への期待】

クロマチンによる細胞分化制御に加えて近年では、環境が変わったときに生命がどのように応答してその環境変化に適応するのかに大きな注目が集まっています。これまでの研究で、ヘテロクロマチンの働きによって、細胞が休眠したり活発に活動したりすることはわかっていました。このようなクロマチン状態の切り替えがどのように制御されるのか、詳細なメカニズムは不明でしたが今回の研究結果は細胞の環境応答に関わる可能性があります。このような環境応答は酵母からヒトに至るまで広く保存された生体反応であり、複雑な生体反応機構の存在が示唆されていますが、その一端を解明することにつながると期待されます。

【用語解説】

- *1 ゲノム DNA … 生命の設計図であり、数万種の遺伝子を含む長い繊維状の巨大分子で、ヒストンと呼ばれる塩基性タンパク質に DNA が巻きついたヌクレオソームと呼ばれる構造体が連なり、クロマチンと呼ばれる繊維状の構造をとって細胞の中に収められている。

- *2 ヘテロクロマチン … クロマチン内に高度に凝集した遺伝子。ヘテロクロマチン内は遺伝子群の発現が高度に抑制されている。ヘテロクロマチンが形成されるゲノム上の場所は細胞の種類によって大きく異なっており、分化の状態や生育条件次第でクロマチン構造はフレキシブルに変化する。ヘテロクロマチン化には、ヒストンタンパク質の一つであるヒストン H3 タンパク質の 9 番目のリジン残基に化学的に修飾されるメチル化修飾 (H3K9me) が鍵を握っており、H3K9me マークがクロマチン内に存在するとヘテロクロマチンタンパク質 HP1 によって読み取られ、HP1 が直接結合してさらにクロマチンを凝集させるためのタンパク質群が呼び込まれ、ヘテロクロマチンが安定化される。