

# 遺伝情報の継承・発現を支える クロマチン機能構造の理解を目指して

小布施 力 史\*



研究室紹介

Elucidation of functional structure of chromatin for genetic inheritances and expression

Key Words : Epigenetics, Chromatin, HP1, Proteomics

私たちの研究室は、遺伝情報の維持・継承、機能発現制御に関わるクロマチン高次構造の分子構築の解明を目指して、既存の分子生物学、生化学、細胞生物学、遺伝学的な手法に加えて、プロテオミクス、ゲノミクスなどのいわゆるオミクスを統合的に取り入れながら研究に取り組んでいます。昨年2017年4月に北海道大学から大阪大学理学研究院生物科学専攻にまいりました。

## はじめに

個体は1個の受精卵から細胞分裂を行うとともに、それぞれの細胞は様々な系譜を経て分化し、組織や個体を形作ります。それぞれの細胞はすべて同じ遺伝情報を持ちながら、遺伝子の機能発現の組み合わせによりそれぞれの細胞の表現型を発現します。遺伝情報を担うDNAは、ヒトの場合、一つの細胞あたり約2mの長さにもなりますが、ヒストンというタンパク質がDNAを規則正しく巻きとり、それに他の様々なタンパク質やRNAが結合してクロマチンを形成し、たった10 $\mu$ mの直径の核の中に納められています(図1)。近年、このDNAを巻き取る構造タンパク質と考えられてきたヒストンが、実は、アセチル化、メチル化、リン酸化などの化学修飾を受け、それがクロマチンの構造に影響を及ぼし、遺伝子の機能発現制御を行うという、いわゆるエピジェネティクスにより支配されていることが理解されるようになってきました。

エピジェネティクスによる制御において重要な染色

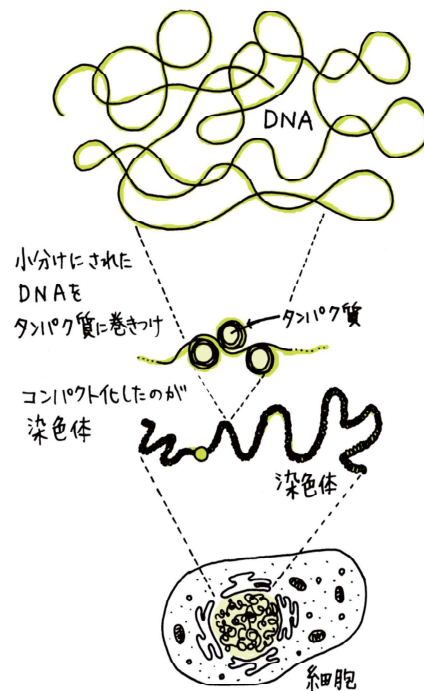


図1 2mのDNAはヒストンや転写因子などのタンパク質や、非コードRNAと複合体をつくって10 $\mu$ m核の中に収められています。



\* Chikashi OBUSE

1965年5月生まれ  
現在、大阪大学 大学院理学研究科 生物科学専攻 染色体構造機能学研究室  
教授 博士(理学) 分子細胞生物学  
TEL : 06-6850-5812  
E-mail : obuse@bio.sci.osaka-u.ac.jp

体上の構造の1つとしてヘテロクロマチンが知られています。ヘテロクロマチンは、ヒストンの修飾などを目印にして形成される凝縮したクロマチン構造であり、転写因子が染色体に近づくのを制限して転写を抑制すると考えられています(図2)。例えば、女性の細胞が持つ2本のX染色体は、2本とも遺伝情報として読み取られると生きていけないので、初期胚のうちに、2本あるX染色体のうち、まるまる

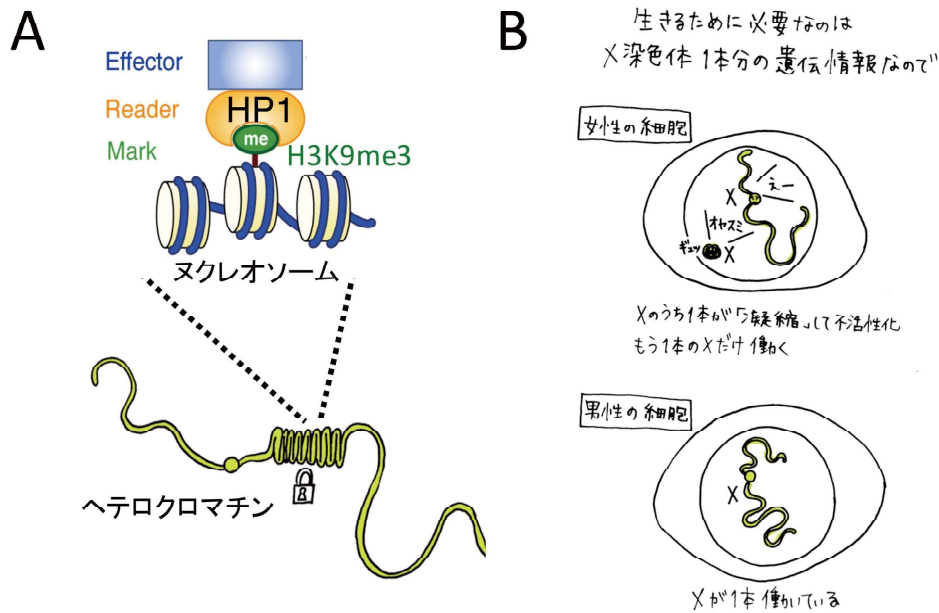


図2 A ヒストンは様々な化学修飾を受ける。Reader タンパク質が化学修飾を読み取って結合し、Reader タンパク質そのもの、あるいは、それに結合する Effector タンパク質が、クロマチンに働きかけ、凝縮したヘテロクロマチン構造に変換されます。  
 B 女性のX染色体は、2本のX染色体のうち1本まるごと凝縮したヘテロクロマチン構造をとり、遺伝子発現が抑制されています。

1本をヘテロクロマチン化して遺伝子発現を抑えてしまうこと (X染色体不活性化) が知られています。また、Hox 遺伝子クラスター領域は発生過程や分化状態によってヘテロクロマチンが形成され、発現制御されていることが知られています。また、発生や分化に依存せず、常に凝縮したヘテロクロマチン状態が保たれている、セントロメアやテロメアのようなところも知られています。

### ヘテロクロマチン構成タンパク質の探索

私たちはヘテロクロマチンの構成因子である HP1 の結合因子を質量分析計を用いたプロテオミクスにより約 80 種類見出しました (図3)。HP1 結合因子は、私たちが網羅的な探索を開始する前からいくつか報告されており、DNAのコピー (複製複合体)、染色体末端保護 (テロメア)、転写制御など、染色体機能の要となる機能的なタンパク質分子あるいは複合体の一員として働いていることが報告されました。実際に私たちも、HP1 が染色体分配を担う動原体複合体 (キネトコア) で機能していることを見出していました (1, 2)。そこで、HP1 結合因子を同定し、その機能を明らかにすることにより、

染色体あるいはクロマチンの上での機能やそれに関わる新たなメカニズムが明らかになるのではないかと考えたのです。HP1 結合タンパク質を網羅的に同定してみると、これまで報告されているタンパク質に加えて、解析されていない新規因子も多く同定することに成功しました (3)。これら新規の HP1 結合タンパク質を、学部4年生の卒業研究や、修士課程の学生として私たちの研究室に参加してくれた学生の皆さんに託して、機能解明に取り組んでもらっています。目論見通り、これまでに、いくつかの新しいクロマチンイベントとそれに関わるメカニズムを明らかにすることができました (3, 4, 5)。

### HP1 と HP1 結合タンパク質の局在・活性制御に関わる POGZ タンパク質

HP1 は 2 量体を形成します。一般的な HP1 結合タンパク質はこの 2 量体 HP1 に結合します。新たに同定した HP1 結合因子の 1 つである POGZ タンパク質は、他の HP1 結合タンパク質とは異なり、HP1 と結合することにより、HP1 の単量体化を促し、HP1 と他の結合タンパク質やクロマチンとの結合を阻害するという、ユニークな性質を持つことがわか

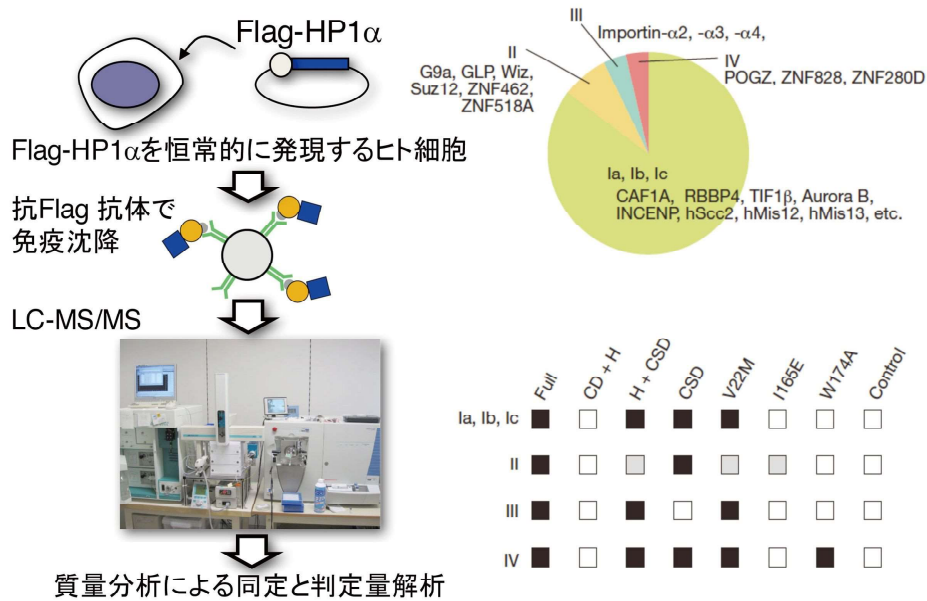


図3 プロテオミクスによるヘテロクロマチンタンパク質HP1の相互作用因子の網羅的な探索を行いました。その結果、HP1結合タンパク質を免疫沈降-質量分析で網羅的に82種類同定できました。その結合様式により、HP1タンパク質を4種類に分類できました。

りました。このPOGZの機能により、例えば、分裂期の進行に必須なAurora Bキナーゼの活性と局在を制御することが明らかとなってきました(3)。また、ごく最近、エクソーム解析によりPOGZが自閉症の原因遺伝子として複数のグループから同定され、私たちが見つけた機能やメカニズムがこの病因を理解する上で重用であると考えられています。

### 女性の“働かない”X染色体に関わるHBIx1-SMCHD1タンパク質

別の新規HP1結合因子(HBIx1)の解析を進めたところ、不活性X染色体のヘテロクロマチン形成にタンパク因子(HBIx1、SMCHD1)と非コード

RNA因子(XIST)が協調して働くことをはじめて解明することができました(図4、参考文献4)。この研究により、不活性X染色体のヘテロクロマチン化メカニズムが明らかになったのみならず、ヒストンの化学修飾がどのようにして凝縮したヘテロクロマチンに変換されるのか、そのメカニズムの一つを示すことができました。この仕組みは常染色体でも使われていることがわかってきました。例えば、第4染色体の末端付近の繰り返し配列に形成されるヘテロクロマチンが脆弱になると、ある種の筋ジストロフィーが発症することが知られています。最近、この領域のヘテロクロマチン化にSMCHD1が寄与していることがわかってきました。さらに、最近、

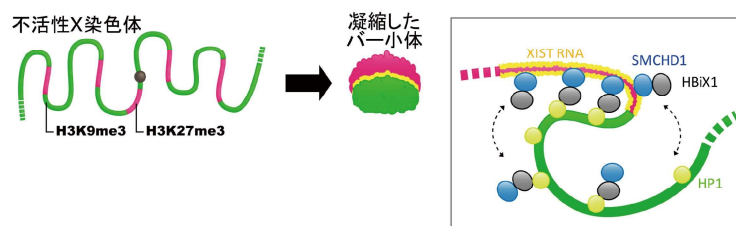


図4 HBIx1とSMCHD1は、H3K9me3領域(緑のエピジェネティクスのマーク)とXISTが覆っている-H3K27me3領域(赤のエピジェネティクスのマーク)を橋渡しして凝縮したパー小体を構築することを明らかにしました。

SMCHD1のある種の変異が顔面形態形成異常を引き起こすことが報告されました。このように、SMCHD1-HBiX1が関与するこれらの疾患は、所謂エピジェネティクス病のモデルケースとして注目されるようになってきました。

### 乳がん、卵巣がんの抑制タンパク質の働きを助ける SCAI

DNAは、紫外線や放射線、化学物質、ウイルスなどにより絶えず損傷を受けており、中でも、DNAの二本鎖が同時に切断された場合は、生命にとって深刻な影響をもたらします。一方、生物にはDNA二重鎖切断を修復する仕組みが備わっており、切断されたDNAの断面を整えてそのままつなぎ直す「非相同末端結合」と、切断時に失われた部分を補って元通りに直す「相同組換え修復」を使い分けています。この使い分けが適切に行われないと、過度のDNA配列の欠落や、DNA配列が異なる染色体に移動してしまう転座、重複が生じるなどの変異が蓄積し、がんや老化のリスクが高まると共に、様々な疾病が引き起こされると考えられています。BRCA1は変異すると乳がんを引き起こす遺伝子として発見

されました。その後の研究によって、BRCA1は相同組換え修復に重要な役割を果たし、がんを防いでいることがわかってきましたが、BRCA1そのものを制御するメカニズムは、未だ多くの部分が未解明です。

私たちは、HP1結合因子の一つとして、BRCA1の制御に関わるタンパク質SCAIを発見しました。BRCA1の変異によるがんの効果的な抗がん剤（オラパリブ；PARP阻害剤）を、SCAIタンパク質が機能しない細胞に反応させると、修復に失敗した異常な染色体が観察されました。この結果はBRCA1を働かなくした場合と同様であったことから、SCAIはBRCA1と同じ経路でDNA修復を助けていることが分かりました。さらに、SCAIはDNAの二本鎖切断箇所に集まり、BRCA1を邪魔するRIF1というタンパク質の機能を抑えることによって、間接的にBRCA1の働きを助けていることが明らかとなりました（図5、参考文献5）。いまのところ、SCAIがHP1と結合している意義は明らかになっていませんが、SCAIがヘテロクロマチン領域におけるDNA修復を助けているという報告もあり、今後の研究の進展が待たれます。

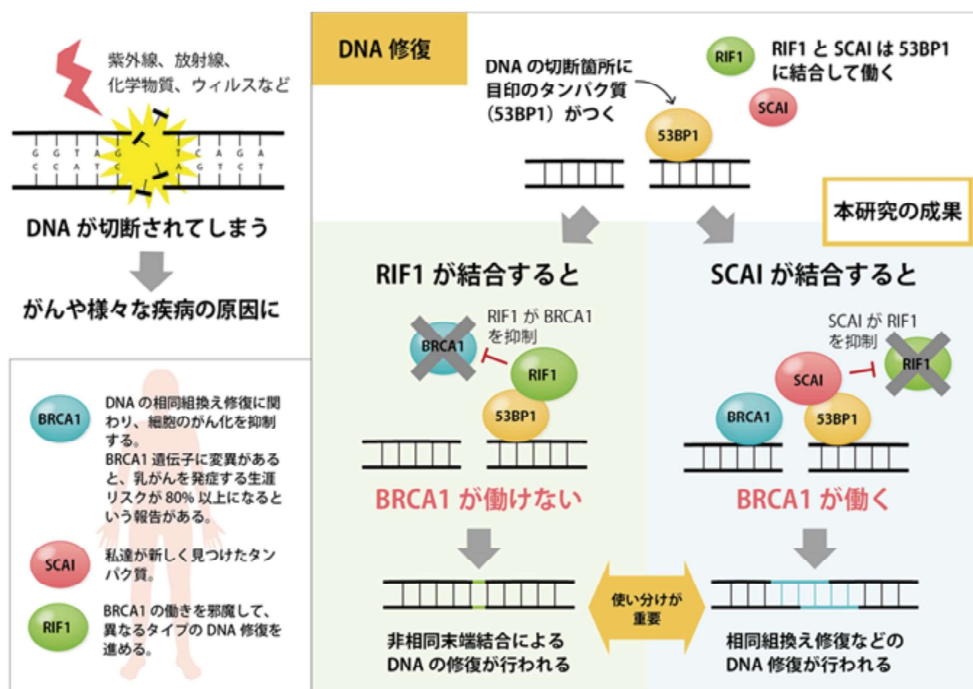


図5 HP1結合タンパク質として同定したSCAIは、乳がん、卵巣がんの抑制遺伝子であるBRCA1の働きを助けることが明らかになりました。

## 今後の展望

このように、私たちは、ヒト細胞を用いて遺伝情報の維持・伝達機構、クロマチン構築やクロマチン上のイベント、遺伝子情報の機能発現制御（所謂エピジェネティクス）のメカニズムを、HP1結合タンパク質を基軸として、分子レベルで理解する研究を推進してきました。近年のエクソーム解析により、希少疾患を含む多くの疾患の原因遺伝子が特定される中、私たちが明らかにしてきたメカニズムや因子は、様々な疾患の病因病態の理解につながると思われます。また、私たちの研究は、将来的には、エピジェネティクスの人為的な操作を可能とするものであり、再生医療に不可欠なリプログラミング技術などに発展する可能性があります。さらに、エピジェネティクスは、発生・分化の制御のみならず、環境、栄養、ストレスなど外的な環境や刺激に反応、適応するためのメカニズムであることは明白であり、様々な生命現象の理解につながるものと思われます。これまでどおりクロマチンを独自の視点から理解するとともに、HP1を中心とした相互作用ネットワークや機能的なネットワークを、分化過程や細胞周期などの時間軸に展開し、有機的に関連づけて研究を推進することにより、HP1の機能をとおしてみえるクロマチンの統合的な理解を図っていきたいと思っています。並行して、これらの研究を推進することにより、クロマチンイベントの破綻が原因となる疾患に対して情報やマテリアルの供給をしながら、リプログラミングなど細胞操作技術への応用も目指して研究を進めていけたらと思います。

## 参考文献

1. Obuse C., Iwasaki O., Kiyomitsu T., Goshima G., Toyoda Y. and Yanagida M. A conserved Mis12 centromere complex is linked to heterochromatic HP1 and outer kinetochore protein Zwint-1. *Nature Cell Biology* 6, 1135 - 1141 (2004)
2. Kiyomitsu T., Iwasaki O., Obuse C., Yanagida M. Inner centromere formation requires hMis14, a trident kinetochore protein that specifically recruits HP1 to human chromosomes. *Journal of Cell Biology* 188, 791 - 807 (2010)
3. Nozawa R.S., Nagao K., Masuda H.T., Iwasaki O., Hirota T., Nozaki N., Kimura H., Obuse C. HP1alpha from mitotic chromosome arms through Aurora B activation. *Nature Cell Biology* 12, 719 - 727 (2010)
4. Nozawa R.S., Nagao K., Igami K.T., Shibata S., Shirai N., Nozaki N., Sado T., Kimura H., Obuse C. Human inactive X chromosome is compacted through a polycombindependent SMCHD1-HBiX1 pathway. *Nature Structure & Molecular Biology* 20, 566 - 573 (2013)
5. Isobe S.Y., Nagao K., Nozaki N., Kimura H., Obuse C. Inhibition of RIF1 by SCAI Allows BRCA1-Mediated Repair. *Cell Reports* 20, 297 - 307 (2017)

