

1

ncDNA
NEWS LETTER

「ゲノムを支える非コード DNA 領域の機能」
文部科学省科学研究費補助金 新学術領域研究（研究領域提案型）

2011
December

ncDNA
NEWS LETTER



「ゲノムを支える非コード DNA 領域の機能」

文部科学省科学研究費補助金 新学術領域研究（研究領域提案型）

新学術領域研究
「ゲノムを支える非コード DNA 領域の機能」ニュースレター 第1号
2011年12月 発行

編集人 中山 潤一
発行人 小林 武彦
発行所 独立行政法人理化学研究所 発生・再生科学総合研究センター
クロマチン動態研究チーム
中山 潤一
TEL : 078-306-3205 FAX : 078-306-3208
E-mail : jnakayam@cdb.riken.jp

領域ホームページ
<http://www.cdb.riken.jp/cmd/ncDNA.html>



contents

巻頭言	2
計画研究の紹介	
□ rDNA の不安定性が染色体及び細胞機能に与える影響	4
□ 非コードDNA 領域によるゲノムDNA 再編成制御機構	5-6
□ 集団遺伝学理論と比較ゲノムによる 非コードDNA 領域の進化メカニズム	7
□ 染色体維持におけるヘテロクロマチンの機能	8-10
□ レトロトランスポゾンがもたらす 非コードDNA 領域のクロマチン構造変化	11
□ 非コードDNA 領域が果たすDNA 損傷ストレス耐性機能	12
□ セントロメア構成因子によるクロマチンネットワークの解析	13
□ テロメア構成因子による染色体の統合的制御機構	14
□ 複製フォークの安定化機構とその破綻による病態の解析	15
学会・シンポジウム「第1回領域会議」	16
学会見聞録	17-18
今後の予定	19
編集後記	19

巻頭言

非コードDNA解析時代の 幕開けにあたり

私が生まれた 1960 年代初頭、ジョン・F・ケネディ アメリカ合衆国大統領は、月への有人ロケット打ち上げ計画いわゆる「アポロ計画」を発表した。アメリカ人のみならず、この壮大な計画に世界中の人々は酔いしれ未踏の地へ夢を抱いた。残念なことにケネディは自身の目でその成功を見ることはなかったが、公約通り米国は（ソ連に先を超されたものの）、月への一步を踏み出した。ただ地球から見た月の美しさとは違い、月面は兎？はおろか何も無い「砂漠」であった。

それから約30年後、米国を中心とする国際コンソーシアムにより「ヒトゲノム計画」が完成した。技術的な進歩とセーラ社との競争により、当初の予定よりも早く2003年に完了し、約30億塩基対のDNA配列と予想よりも少ない2万数千の遺伝子が同定された。クリントン米国大統領が（おそらくは彼の尊敬するケネディ大統領を真似て!?)その完成を大々的に発表したのは、まだ記憶に新しい。当時はあまり注目されていなかったが、実は同定された配列のほとんど（98%）は、遺伝子ではなく、やはり「砂漠」のようなタンパク質をコードしない非コードDNA領域であった。月の砂漠には豊富な鉱物資源が埋まっているそうだが、ゲノムの砂漠には一体何が埋まっているのであろうか？

本新学術領域ではこの非コードDNA領域に眠る「お宝」の発掘を、以下の3つのミッションを持って挑む。

インターメアの網羅的同定

非コードDNA領域には既に機能が知られている配列がいくつかある。複製開始点、組換えのホットスポット、転写のエンハンサー、セントロメア、テロメア、などがそうである。これらは染色体の維持や遺伝子の発現調節に必要な「機能配列」として研究されてきた。この他、非コードDNA領域の特徴的な構成要素としては、ヒトゲノムの約半分を占めるレトロトランスポゾンとその残骸、rDNAを始めとする大きな反復領域、またトリプレットリピートやマイクロサテライト等の比較的小さな単純繰り返し配列がある。これら「反復配列」の多くは技術的な理由により「ヒト

ゲノム計画」では解読されなかったが、昨今の次世代シーケンサー等の技術革新により、徐々にその姿を現しはじめてきている。そこで我々の最初のミッションは非コードDNA領域から何らかの機能をもった配列を網羅的に抽出することである。そのために実験的手法と情報学的手法を駆使し、近縁種間での保存性、配列の法則性、タンパク質の結合活性、等々に着目して研究を進める。抽出された機能性非コード配列を特に「インターメア」と名付け、ゲノム解析の新しい布石とする。

3メアネットワーク

インターメアの多くはDNAをコントロールして染色体の機能を陰で支える役割を担うと考えられる。それらは染色体の基本的な構造維持のみならず、細胞周期、分化、老化、減数分裂といった細胞機能の変化に応じてこの巨大な染色体を維持、制御する。その仕組みとしてインターメアはそれぞれの配列間、さらにはテロメア、セントロメアを含めた3メア間で高度にネットワークを形成し、お互い連携し合いながら染色体の機能を制御していると予想される。そこで当領域の2つ目のミッションとしてはこの3メアネットワークの実体を、特に染色体の基本構造であるクロマチン構造の変化に着目して解析する。

インターメアによる新「ゲノム観」の創出

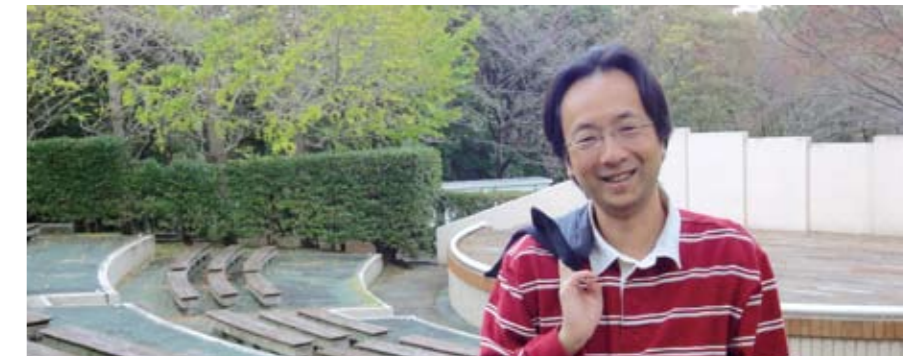
本新学術領域研究の3つ目のミッションは、従来の染色体の個別機能の研究から離れ、インターメアを中心とした非コードDNA解析時代の新しい「ゲノム観」を創出することである。染色体を複製と分配を繰り返す「遺伝子の集合体」ではなく、セルフコントロールの効いた1つの「有機体」として捉え、今まで見えてこなかった染色体統御の全体像を明らかにする。さらには人工染色体を用いて3メアネットワークの再構築にもチャレンジし、個々のインターメアの持つ機能、遺伝子増幅や変異といった染色体の変化、最終的には染色体全体を統御するメカニズムの解明に繋げる。

未来に広がる非コードDNA研究

非コードDNA領域による染色体維持機構の解明は、これまで困難であった大規模な遺伝子変異や変異誘導、あるいはそれらの検出を可能にし、生命科学の各分野へ多大な波及効果を及ぼすと期待できる。例えば、インターメアを用いた染色体レベルでの遺伝子変異技術は新たなゲノム工学の幕開けとなり、品種改良や遺伝子治療のベクター開発に寄与する。昨今社会問題化している放射線による人体への影響も非コードDNAの修復機構の研究と捉えることで、科学的な評価システムの構築に繋げることが可能である。また非コードDNA領域に多数存在する脆弱部位や組換えのホットスポットに関する研究は、ゲノムの異常に起因した疾患の発生機構から創薬へと結びつく一連の情報を我々に提供するであろう。さらには発生、分化、老化に伴うゲノム機能の変遷の解析は、高齢化社会を迎える我が国の医療、あるいは新時代の医療である「再生医療」の重要な基盤研究となりうる。

我々は非コードDNA領域の解析が可能になったこの時代との巡り合わせに感謝し、今後5年間、巨大で謎に満ちた非コード領域の機能解明にがむしゃらに取り組みたい。

乞うご期待。



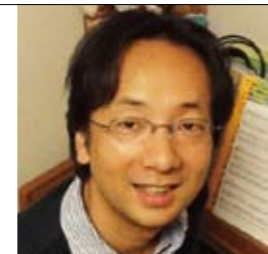
領域代表
小林 武彦
国立遺伝学研究所

rDNA の不安定性が染色体及び細胞機能に与える影響

リボソーム RNA 遺伝子 (rDNA) は、同一配列が 100 コピー以上繰り返して存在する巨大反復配列群である。そのため rDNA は絶えずリピート間での組換え (コピー数の変動) を繰り返す最大の脆弱部位であり、細胞の老化を誘導し、DNA ダメージに対する細胞の耐性を左右する領域である。また rDNA は遺伝子間に非コード DNA 領域を有しその配列も含めたユニットとして反復しているため、1 本の染色体の大部分を占める数メガの巨大 rDNA にあっても、実質的には数キロの非コード DNA 配列が繰り返し存在する単純な構造をとる。そのため染色体の安定性の制御に関わる配列 (インターメア) はその数キロの非コード DNA 領域に集中して存在することとなり (下図)、少し古い表現をすれば「インターメア銀座」である。

我々のこれまでの rDNA 組換え機構の研究によりそのコピー数を自由に変更できるようになった。これにより、例えば 2 コピーまで減らした株で非コード DNA 領域に変異を導入し、それを数百コピーまで増幅させることにより、数メガに渡って同一配列に変異を入れることが可能であり、非コード DNA 領域のゲノム維持機能を解析する上で絶好のモデル領域となっている。

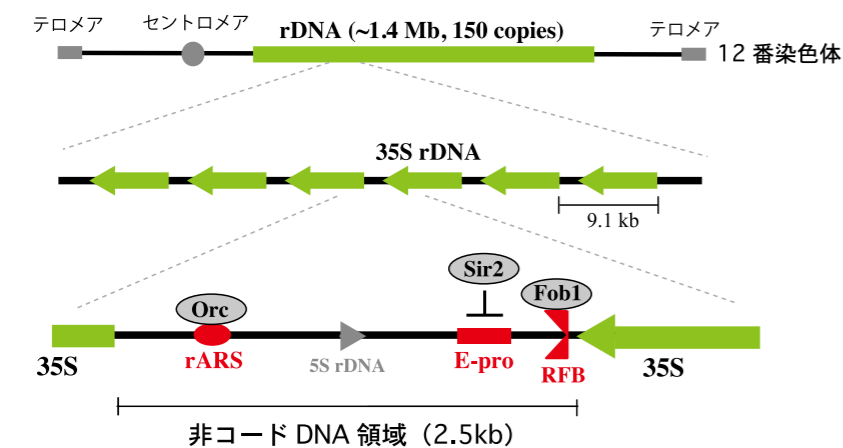
配列解析に加えて酵母の遺伝子欠損ライブラリー (4,800 株) を利用して rDNA の安定化に関わる遺伝子を網羅的に同定し、非コード DNA 領域の染色体維持に果たす役割の解明を目指す。さらに rDNA の不安定化に起因した染色体全体の安定性の低下を防ぐネットワーク機構、またその破綻が細胞機能、特に老化に及ぼす影響について酵母と動物細胞を用いて解析する。



小林 武彦
国立遺伝学研究所 細胞遺伝学部門



連携研究者
赤松 由布子



出芽酵母の rDNA とインターメア
酵母の rDNA は約 150 コピーが 12 番染色体上に巨大クラスターを形成している。1 ユニットの 9.1 kb で内 2.5 kb が非コード DNA 領域である。そこには既にインターメアとして複製開始点 (ARS)、非コードプロモーター (E-pro)、複製阻害点 (RFB) が同定されている。それらはすべて rDNA の安定性維持に必要な要素である。これら以外にも未知なインターメアがまだまだこの領域に濃縮されていると考えられる。

非コード DNA 領域によるゲノム DNA 再編成制御機構 ①



太田 邦史
東京大学大学院 総合文化研究科



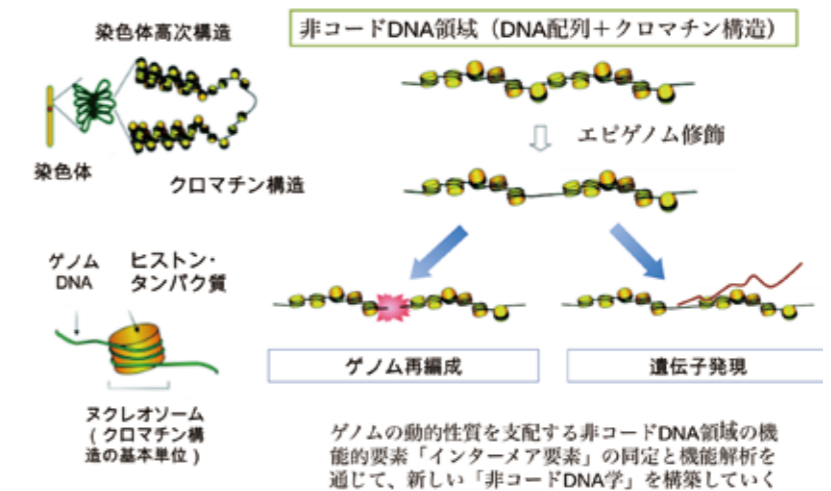
連携研究者
山田 貴富
東京大学大学院 総合文化研究科

近年の個別ゲノム解読研究から、動的に再編成を受けるゲノム DNA の姿が明らかになりつつある。たとえば、同一のゲノム配列を持ちながら生まれてきた一卵性双生児が、異なる環境で育てられることで、コピー数変動などのゲノム再編成により、加齢に伴って少しずつゲノム配列に差異が生じることが報告されている。

DNA 再編成は、遺伝子を含まない「非コード DNA 領域」を介して複層的に制御されていることが示唆されている。本研究では各班との連携を通じ、ゲノム DNA 再編成の制御における非コード DNA 領域の役割について、「非コード機能配列」、「クロマチン構造」、「反復配列」、「非コード RNA 転写」、「染色体高次構造」、「トランスポゾン」といった観点から分子レベルの解析を行い、新たな非コード機能配列や調節因子の発見を目指す。

たとえば、酵母やマウスの減数分裂期組換えが頻発する領域 (組換えホットスポット) におけるクロマチン修飾や染色体高次構造について研究を行い、これらに関わる基幹的なタンパク質や RNA などの同定を進めている。また、鳥類抗体遺伝子の上流に存在する偽遺伝子群 (抗体可変領域に相同性を有する) や、抗体定常領域のイントロン配列に見られる反復配列の機能を解析している。さらには、独自に開発した大規模ゲノム再編成を用いてゲノム DNA の再編成を誘発し、再編成部位の配列的特徴やクロマチン修飾について、次世代 DNA シーケンサーや DNA チップなどを用いた全ゲノムレベルでの解析を行っている。

本領域研究では、これらの観点から、ゲノムの秘境ともいえる「非コード DNA 領域」の実像を描き出していきたいと考えている。
(太田)



ゲノムの動的性質を支配する非コード DNA 領域の機能的要素「インターメア要素」の同定と機能解析を通じて、新しい「非コード DNA 学」を構築していく

非コード DNA 領域によるゲノム DNA 再編成制御機構 ②

DNA 複製と姉妹染色分体間接着確立の連携機構の解明

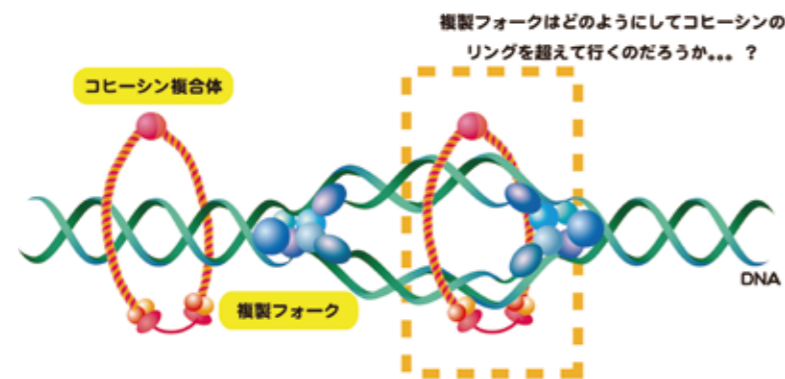
遺伝情報の正確な分配の為に必須の役割を担っている姉妹染色分体間接着因子(コヒーシン)は、S 期に染色体 DNA が複製されると複製された領域に結合していき、姉妹染色分体間の接着が確立されていきます。S 期においてコヒーシンは転写の収束部位に集まる事、また転写の変化に伴いコヒーシンがその局在を変化させるなど、自由度高く局在を変化する事が明らかになっていますが、S 期の重要なイベントである複製とコヒーシンとの関わりについて、例えばコヒーシンという巨大なタンパク複合体の結合部位は複製フォークの進行の妨げになると予想されるにも関わらず、実際にコヒー

シン結合部位が障害になりうるのか、またその場合、どのように回避しているのか等、未だ未解明な点が多く残っています。私は出芽酵母において、S 期において正確な複製を維持するのに必要な複製チェックポイント機構のキナーゼである Mec1 の変異株中(正常に複製フォークが停止出来ない条件下)では、複製フォークが停止しやすい位置と姉妹染色分体間接着因子の重なる割合が上昇するというデータを元に、このデータを「とっかかり」として、複製過程と姉妹染色分体間接着確立の連携機構について明らかにする事を目指しています。

(加藤)



研究分担者
加藤 由起
東京大学細胞分子生物学研究所



集団遺伝学理論と比較ゲノムによる非コード DNA 領域の進化メカニズム



印南 秀樹
総合研究大学院大学 先導科学研究科

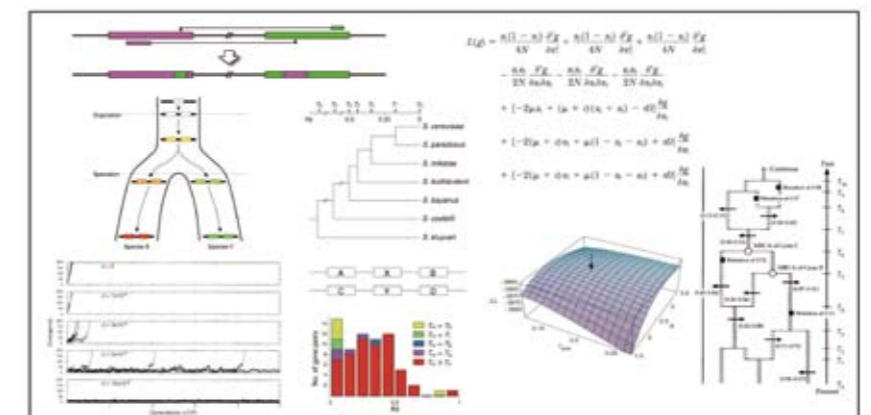
我々の研究室は、ゲノムの進化のメカニズムを分子レベルで解明することをゴールとしています。これまで分子進化遺伝学の研究の主な対象は、タンパク質をコードする遺伝子でした。今回、それ以外の重要な機能情報をもつ非コード領域を研究対象に設定し、新しい概念のゲノムの進化を考えます。

ダーウィンが言うように、目に見えるような大きな進化は一朝一夕になし得るものではなく、小さな進化の積み重ねです。これは、タンパク質をコードする遺伝子だけでなく、それ以外の重要な機能情報をもつ染色体上のすべての非コード領域にも当てはまります。あらゆるレベルの突然変異(塩基置換から、領域の重複欠失、染色体の構造変化まで)は種の進化に貢献することができます。ここに自然選択という力が加わり、その突然変異がふるいにかけられます。そして、種全体に固定したものだけが、進化に貢献できるのです。そして、このようなマイクロレベルの進化プロセスが無数に蓄積し、それが例えばヒトとマウスの染色体を比べたときに可視化されるマクロレベルの進化につながります。本研究では、非コード DNA 領域がどのような過程で進化してきたかを明らかにします。理論研究は一般的に非常に柔軟で、幅広いタイプの非コー

ド DNA 領域を研究対象にすることができます。例えば、反復配列、トランスポゾン増幅を介したクロマチン構造形成に関する進化的モデリングなどを中心に、広い興味をもって研究を遂行します。それぞれのトピックに対し、以下のようなプロセスで本研究を行います。

- 1) 集団遺伝学的アプローチによる染色体研究: 集団遺伝学の理論を染色体レベルにまで広げ、それを比較ゲノムのテクニックに組み込むことによって新しい理論を構築する。近縁種のゲノム情報比較を前提に、基礎理論フレームワークを構築し、さらにはデータ解析ツールの開発を行う。
- 2) 多次元ゲノム情報解析ツールによる非コード DNA 領域の機能の解読: 開発した解析ツールを、多次元のゲノム情報(塩基配列から発現まで)に応用することによって、非コード領域のどの部分にどのような自然選択の力が加わっているかを解明する。それは、非コード領域の特に重要な部分や、ある種に特異的に適応進化した部分を特定することも可能にする。

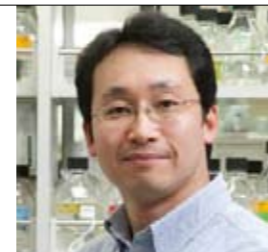
このような理論的研究と、本領域の実験研究を融合することによって、非コード領域の機能の理解が飛躍的に発展するはずだ。



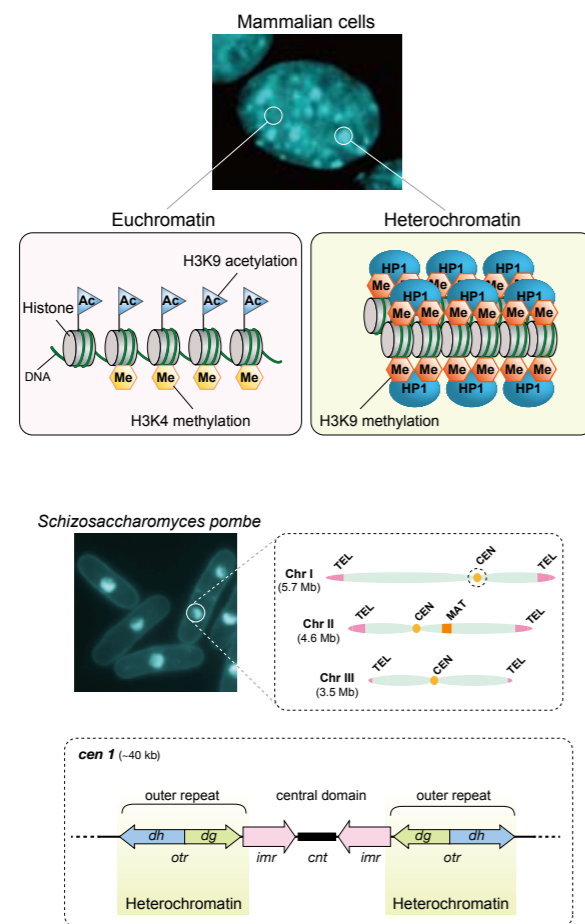
染色体維持におけるヘテロクロマチンの機能 ①

染色体機能の維持に必要なセントロメアやテロメアの領域には、単純な反復配列やトランスポゾンなどいわゆる「非コードDNA」が存在しています。また染色体の複製や組換えを制御するシス配列も、やはり非コードDNA内に存在していると考えられています。実際に非コードDNAはどのように染色体機能を制御しているのか？その鍵を握るのは、非コードDNA上に形成される「ヘテロクロマチン」と呼ばれる高次クロマチン構造にあります。このクロマチン構造は染色体機能に重要な働きをしており、実際にヘテロクロマチン因子の欠損によってこの構造が破綻すると、染色体の脱落や染色体融合などさまざまな異常が起きることが明らかにされています。これまでさまざまなモデル生物の遺伝学的、生化学的、細胞生物学的な解析から、ヒストンの特徴的なメチル化修飾とこの修飾を認識

して結合するHP1タンパク質が抑制的なクロマチン構造を形成するのに重要な役割を果たしている事が明らかにされています。また、このヘテロクロマチン構造の維持に、非コードDNA領域からのRNAの転写とそのプロセッシングが関与する事が報告されています。しかし、非コードDNA領域のどのような特徴がヘテロクロマチン化を引き起こすのか、この重要な問題はまだまだ明らかにされていません。またHP1の結合がどのように非コードDNAのヌクレオソームを変化させているのか、その構造的な知見も不明なままです。本研究では、非コードDNA領域がヘテロクロマチン化される分子機構について、分裂酵母と動物細胞を用いてその解明を目指します。また分担者と協力して構造的なアプローチによって、非コードDNA領域を特徴付けるヌクレオソーム構造の解析を行います。 (中山)



中山 潤一
理化学研究所
発生・再生科学総合研究センター
クロマチン動態研究チーム



染色体維持におけるヘテロクロマチンの機能 ②

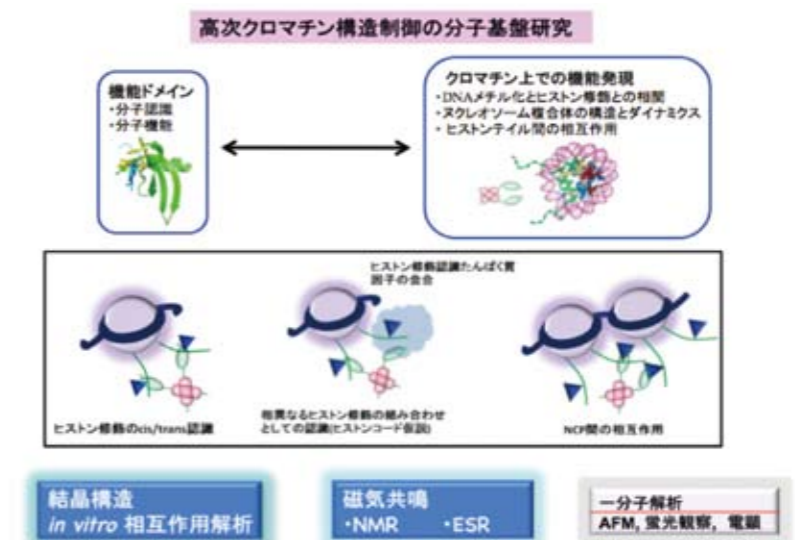
構造生物学的手法を用いたヘテロクロマチン形成の分子基盤研究



研究分担者
有吉 真理子
京都大学 物質細胞統合システム拠点

HP1はヌクレオソーム中のヒストンH3の翻訳後修飾状態を認識し、ヘテロクロマチン形成を促進する鍵となるタンパク質です。HP1は、Chromo domain (CD)を介してヒストンH3のN末端テイル中のメチル化リジン (H3K9me)を認識し、Chromoshadow domain (CSD)を介して2量体として機能しています。ヒストンH3のN末端ペプチドとCDの複合体の結晶構造、およびCSDの2量体構造が明らかにされていますが、HP1が一つのヌクレオソーム中の2つのH3K9meを同時に認識しているのか、また、ヌクレオソーム上で他のヒストン結合因子と協調的に機能しているのかなど不明な点が多く残されています。従って、ヘテロクロマチン形成の分子機構をさらに理解するためには、クロマチン上

の複数のヒストン修飾の機能相関、ヌクレオソーム上での分子間相互作用を視野に入れた構造機能解析が必要となります。本研究では、X線結晶構造解析、NMR、1分子観察などの構造生物学的手法を相補的に用いて、HP1を核とするヘテロクロマチン形成を支える分子複合体形成と解離の構造基盤を明らかにしていきます。第一に、ヌクレオソーム上でのHP1によるクロマチン上でのH3K9me認識機構を明らかにするため、メチル化リジンアナログを導入した再構成ヌクレオソーム系を使った構造機能解析を行います。また、リン酸化、SUMO化によるHP1の構造変化や分子認識の変化を原子レベルで解析することによって、翻訳後修飾による高次の機能制御の分子メカニズムを明らかにしていきます。 (有吉)



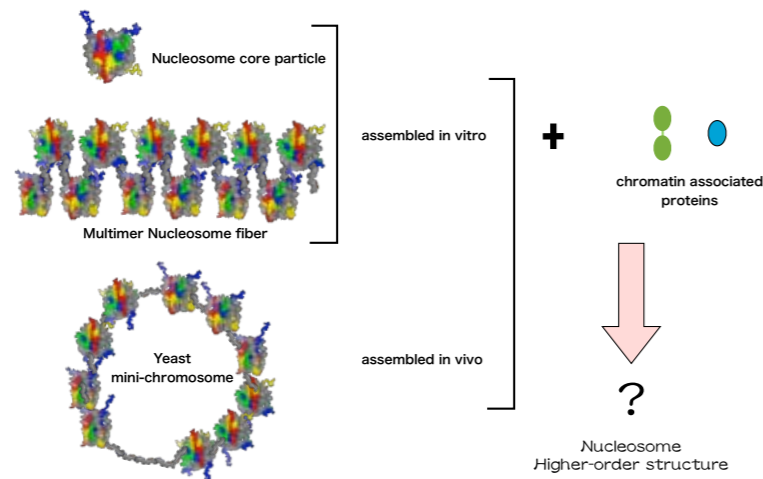
染色体維持におけるヘテロクロマチンの機能 ③

高次ヌクレオソーム構造の生化学的解析

真核生物のゲノム DNA は、ヒストンと非ヒストンタンパク質によりクロマチンとして細胞核内に存在しております。第一に、ゲノム DNA はヒストンオクタマーに巻き付くことにより、基本ユニットとしてのヌクレオソームを形成しています。このヌクレオソームは、次に、高次ヌクレオソームを形成し、機能的なクロマチンを形成しています。この高次ヌクレオソームは、1) ヌクレオソーム自体の折りたたみと、2) ヌクレオソームに相互作用する因子 (クロマチン結合タンパク質など) により形成されます。しかし、このどちらも未だ完全には解明されておらず、また、この二つは独立の現象ではなく、相乗的に働き高次ヌクレオソームが形成されると考えられます。これまでに同定されているインターメアの一つであるヘテロクロマチンは、セントロメアやテロメアに存在し、染色体全体の制御を行っていると考えられています。

さらに、セントロメアやテロメア以外の染色体の部位にも多く存在し、様々な遺伝子の調節を始め、染色体の種々の機能に関与している可能性があります。このヘテロクロマチン構築に関するクロマチン結合タンパク質が複数同定されております。しかし、それらのタンパク質により、どのような高次ヌクレオソームが組み立てられるのかは、ほとんど分かっておりません。本研究では、in vivo と in vitro のヌクレオソーム再構築系を用いることにより、生化学的にヘテロクロマチンの高次ヌクレオソームの形成メカニズムに迫ります。これらヘテロクロマチンの形成に特異的な結合タンパク質がどのように結合し、どのような高次ヌクレオソームを形成するのかを、生化学的解析を通して理解することを目指します。

(須賀)



研究分担者
須賀 則之
明星大学理工学部

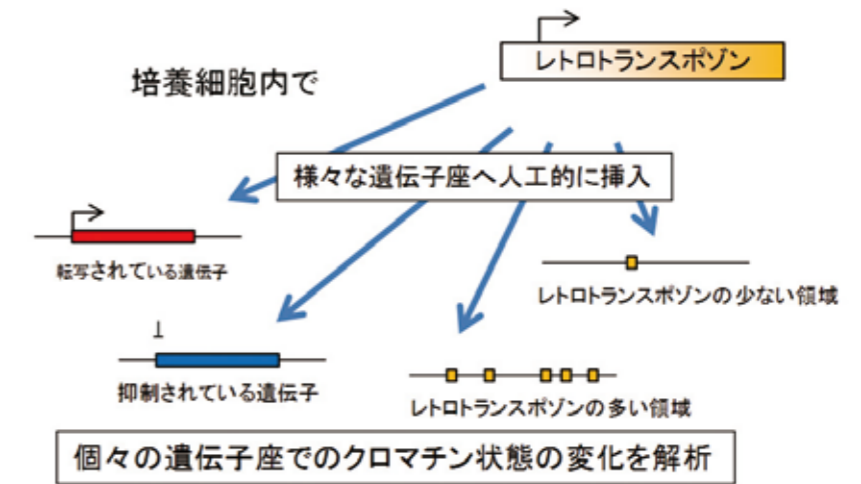
レトロトランスポゾンがもたらす非コード DNA 領域のクロマチン構造変化



梶川 正樹
東京工業大学大学院 生命工学研究科

レトロトランスポゾンは、転移因子の一種であり、自身配列から転写された RNA を逆転写することで自身のコピーを増幅する。レトロトランスポゾンは、宿主生物ゲノムの大きな構成要素であり、ヒトゲノムにおいてはその約半分を構成している。近年、レトロトランスポゾンの転移・増幅が、DNA メチル化やヒストン修飾により抑制されているとの報告が多数なされている。このことから、転移因子は宿主生物の染色体機能に大きな影響を及ぼしていると考えられるが、転移因子の存在と宿主遺伝子の発現制御との関係性については限られた知見しか得られていない。これまで我々の研究グループは、レトロトランスポゾンの一種である Long interspersed element (LINE)

及び Short Interspersed Element (SINE) の転移・増幅の分子メカニズム解明を目的として研究を行ってきた。その過程において我々は、培養細胞内でのレトロトランスポゾン人為的増幅系を構築した。本研究計画では、このレトロトランスポゾン人為的増幅系を用いて、新規転移レトロトランスポゾン配列を有する培養細胞を多数構築し、レトロトランスポゾンの新規増幅が、宿主ゲノムのエピゲノム情報にどのような変化を引き起こすのかを解明することを目的とする。本研究を通して、宿主ゲノムの大きな構成要素であるレトロトランスポゾンが、宿主ゲノムのエピゲノム情報制御にどのような影響を及ぼしているのかを解明できるものと期待している。



非コード DNA 領域が果たす DNA 損傷ストレス耐性機能

細胞内では、地球環境及び細胞内環境に由来する様々な因子によって DNA 損傷がランダムな箇所では発生しています。生物は、このような微量ながらも慢性的な DNA 損傷を受け続ける環境において、ゲノムの安定性を維持しながら増殖する能力、すなわち DNA 損傷ストレスに対する耐性を獲得することで様々な環境に適応してきました。これらの DNA 損傷の多くは、時間あたりの量としては微量である一方で、この微量ながらも長期に渡る損傷ストレスへの暴露は突然変異を誘発する原因となりうるため、ヒトにおける発がんや老化と密接に関連していることが明らかとなってきています。また、このような慢性的な損傷ストレス環境下では、DNA 損傷の修復に加えて、複製阻害の回避や細胞周期の制御機構などが一つのシステムとして機能し、DNA 損傷の量や発生する場所によって柔軟にそれら役

割を変動することで損傷ストレスに対する耐性獲得に重要な役割を果たしていると考えられます。従来のゲノム安定性に関する多くの研究は、遺伝子コード領域の変異に起因する影響に関するものであり、反復配列などを含む非コード DNA 領域における DNA 損傷が、ゲノム安定性維持や細胞の増殖にどのような影響を及ぼすかについては不明な点が多く残っています。本研究では、慢性的な DNA 損傷ストレス環境において、DNA 損傷応答や DNA 損傷による複製阻害回避機構が非コード領域特異的な反復配列やクロマチン動態によってどのような影響又は制御を受けているのかを解明します。さらに、非コード領域安定性の破綻が染色体構造や様々な細胞機能の制御に及ぼす影響を明らかにすることで、非コード DNA 領域が損傷ストレス耐性獲得に果たす役割とその分子基盤の解明を目指しています。



菱田 卓
学習院大学 理学部生命科学科



非コード領域が損傷ストレス耐性に果たす役割とは..

- 非コード領域におけるDNA複製阻害応答の制御
 - ▶ クロマチン動態制御とDNA複製阻害応答
 - ▶ 突然変異誘発・防御の分子メカニズム
- 非コード領域の安定性維持機構
 - ▶ DNA相同組換えの制御
 - ▶ 反復配列の安定性維持

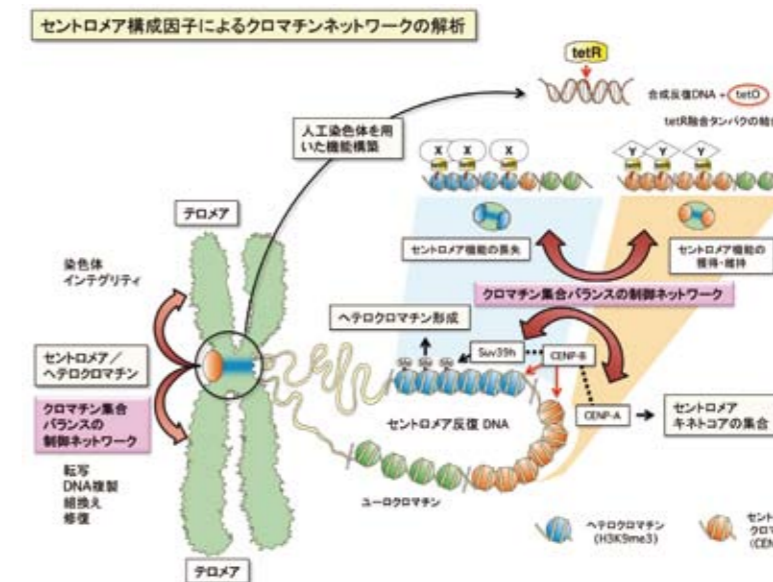
セントロメア構成因子によるクロマチンネットワークの解析



舩本 寛
かずさ DNA 研究所
ヒトゲノム研究部・細胞工學研究室

本新学術領域研究の大きな目標の一つは、多様なゲノムの機能が非コード DNA を介して如何に連携しながら維持・制御されているのか統一的に理解することです。染色体分配機能に関わるセントロメア/キネトコアは、非コード反復 DNA 領域に形成されており、非コード DNA と染色体機能との連携機構に迫る絶好の標的ですが、必ずしもキネトコア構成因子が反復 DNA に対して 1 : 1 の配列特異性のみで集合する訳ではありません。このセントロメアの反復 DNA にはヘテロクロマチンも集合し、セントロメア機能制御への関わりが指摘されており、さらに染色体の維持制御ネットワークの主要センターとしても注目されます。私達は、これまで完全に合成した反復 DNA 配列を用いてヒト細胞中で安定維持す

る人工染色体を形成させました。さらに、この合成 DNA に組み込んだ配列に各種融合タンパク質を結合させ、セントロメアクロマチンやヘテロクロマチンの集合を操作可能にするシステムを開発しました。そこで私達の研究計画では、この人工染色体システムを用い染色体の様々な機能をつくり出し、多様な構成因子の集合機構を明らかにする予定です。さらに、セントロメアとヘテロクロマチン、テロメア、複製、組換え、転写、損傷修復などの各非コード DNA 上の染色体諸機能との関係を統御するクロマチンネットワーク機構の解明を進めていきます。細胞老化や分化などの高次生命現象を染色体側から眺めるとどのように制御されているのか、その実体に迫りたいと考えています。



テロメア構成因子による染色体の統合的制御機構

テロメアは染色体の代表的な機能を持った非コード DNA 領域であり、世代を超えた染色体の維持、細胞老化のタイミング、減数分裂期の正常な進行に深く関与している。テロメアの染色体最末端部分には特殊な反復配列であるテロメアリピートからなる DNA が存在する。テロメアリピート領域に隣接する部分にはサブテロメア領域が存在し、それはテロメアリピートとは異なる DNA 配列を持ち、異なるサブテロメア間で相同性が高い DNA 配列を含むことが特徴である。これらの二つの領域は共に高度に凝縮された構成的ヘテロクロマチンであり、様々なタンパク質が局在してテロメア機能の維持に寄与している。

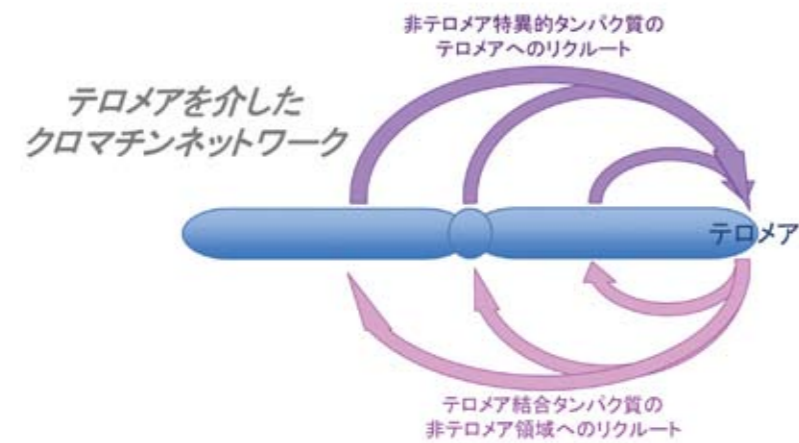
近年、国内外の研究者の研究によって、テロメア結合タンパク質の“テロメアにおける”機能の理解は飛躍的に深まった。一方、出芽酵母や哺乳類の Rap1 は、テロメア制御タンパク質としてだけでなく、他の染色体部位に作用して転写制御因子としても機

能することが知られている。しかし、Rap1 がさらに他の染色体ドメインにも作用するのかなど未解明な点が多い。これとは対照的に、テロメアには DNA 修復因子、組換え因子、複製因子、RNAi マシナリー、クロモドメインタンパク質群、紡錘体チェックポイントタンパク質などのテロメア非特異的タンパク質が局在する。しかし、これらのテロメア非特異的タンパク質のテロメアにおける機能については不明な点が多く残されている。また、多くのタンパク質のテロメア局在の場を提供するサブテロメアの機能も、これまでほとんど明らかにされていない。

テロメアを含む非コード配列領域全体が連係して染色体の機能維持に寄与していることを示唆している。そこで本研究では、“ゲノムワイドな”ヘテロクロマチンネットワークの一員としてのテロメアの新機能の解明を目指す。



加納 純子
大阪大学蛋白質研究所
生命維持情報ネットワーク研究グループ



複製フォークの安定化機構とその破綻による病態の解析



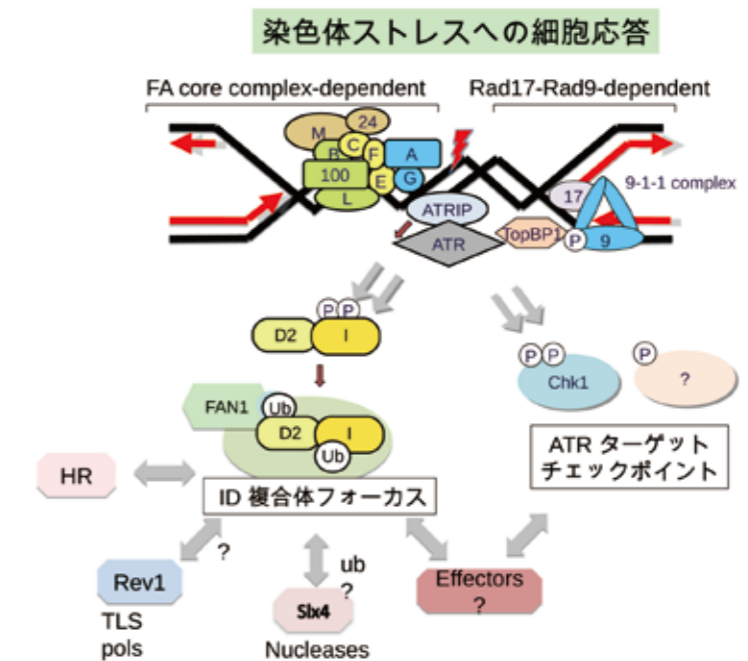
高田 穂
京都大学 放射線生物研究センター
晩発効果研究部門
DNA 損傷シグナル研究分野

染色体は、内因性代謝産物、放射線、薬物などが使用される低線量紫外線、オンコジーン活性化、抗がん剤や複製阻害剤投与などにより DNA 損傷や複製ストレスを受ける。これらをまとめて本研究では「染色体ストレス」とよぶ。高等真核細胞染色体の非コード DNA 領域には、“染色体ストレス”高感受性領域のいわゆる「脆弱部位」が進化上保存されており、生命維持に必須な何らかの役割を果たしている。

ヒト染色体には、common fragile site (CFS) と呼ばれる脆弱部位が数十カ所以上同定され、FRA3B (3 番染色体)、FRA16D (16 番染色体) などが代表的である。また複製と転写装置の衝突部位やテロメア、セントロメア、インターメア (非コード機能配列)、複製開始点、G-quadruplex(G4) なども、ストレスを受けやすい高感受性部位であると予想される。

染色体ストレス時、これらの部位で進行を止められた複製フォークは修復のネットワーク (チェックポイント、ファンconi 貧血経路、DNA 組換え修復など) により維持されているが、それらが破綻すると発がん、幹細胞不全、早期老化などの病態が出現する。

本研究では、(1) 非コード DNA 上で展開される染色体ストレスの応答因子と各脆弱部位の位置関係を詳細に検討し、ゲノム配列の面から染色体ストレス応答の実体を探る。さらに、(2) ATR キナーゼによるチェックポイントをはじめとした分子機構の初期活性化メカニズムと、(3) それによって発動するチェックポイントやファンconi 貧血経路などのエフェクター機構の解明を目指す。また、(4) 「病態解析チーム」として領域の基礎的な知見を老化やがんなどのヒト疾患理解へと展開したい。



新学術領域

「ゲノムを支える非コード DNA 領域の機能」
第1回領域会議

平成 23 年 9 月 27・28 日（於 御殿場高原ホテル BU）

本新学術領域の第1回領域会議が9月に富士山の麓の御殿場にて開催されました。各班員の5年間の計画研究からチーム研究の効率的な進め方、領域研究としての必要な公募研究について、さらに非コードDNAに秘められたインターメアの実体はどのように迫るかなどについて本会議で話し合われました。

新学術研究領域「ゲノムを支える非コード領域の機能」
第一回領域会議 議事録

1. 領域代表挨拶（小林）
学術調査官の紹介。領域の運営方針、全体目標の確認
2. 自己紹介
3. 5年間の領域研究計画について一意見交換
連携研究の進め方（小林）
チーム研究の進め方、テクノロジーハブの利用
4. 前期公募班員の選考について（小林）
公募班で特に重視する分野の検討
5. 国際会議、領域会議、総括班会議について開催地、世話人（小林、加納）
5年間の活動計画、それぞれの担当の決定（別表）
6. HP等の広報、情報公開について（中山、梶川）
7. テクノロジーハブ、総括班購入物品の運営について（太田、菱田）
シーケンサー使用ルールの原案を作製（太田）
ChIP-seq（東大）、人工染色体（舂本）の講習会について
8. 配列解析の連携体制について（印南、太田）
9. 各研究計画及びチームリーダーによるチーム研究計画
10. 領域会議総括（小林）
11. 次会議の確認（次回担当者 高田）

出席者（敬称略）

●学術調査官

曾和 義幸
大杉 美穂

●班員

小林 武彦（遺伝研）
赤松 由布子（遺伝研）
太田 邦史（東大）
加藤 由起（東大）
山田 貴富（東大）
中山 潤一（理研神戸）
有吉 真理子（京大）
須賀 則之（明星大）
印南 秀樹（総研大）
加納 純子（阪大）
舂本 寛（かずさDNA研）
高田 稜（京大）
梶川 正樹（東工大）
菱田 卓（学習院大）

●会議事務担当

坂 季美子（遺伝研）

学会見聞録 1

「第10回核ダイナミクス研究会に参加して」

中山 潤一

2011年10月26日～28日に北海道の北広島で開催された、第10回核ダイナミクス研究会に参加した。今回は北海道大学の村上洋太先生が世話人をして下さった。これまで春や夏に北海道へ行く機会は多かったが、秋のやや寒くはじめる北海道へ行くのは初めてである。なるほど、村上先生が真っ先にスケジュールを決めた時期だけあって、旧プリンス系のホテルから眺める眺望は素晴らしいものだった（写真参照）。惜しむらくは、この北海道の抜群の紅葉の季節、私達を悩ませる科研費の申請締め切りの時期でもあり、村上先生自身も含めて、かなりハードなスケジュールの中で参加された先生が多くいたのではないかと思います。

さて、これまで何度も声をかけられていながら不義理をして、実際に核ダイナミクス研究会に参加したのはこれが最初である。実際の発表では、核膜孔複合体から核輸送、RNA輸送からクロマチン、ヒストン、リモデリング、ヘテロクロマチン、DNA修復まで、まあ核の中での現象であれば何でもありといった、実に幅広い口頭発表とポスター発表があった。分野に関して言えば毎年1月に行われている「染色体ワークショップ」と重複するが、中には核ダイナミクスの方だけ参加するという先生もいたりして、今回初めてお話しさせていただいた方も何名かいた。

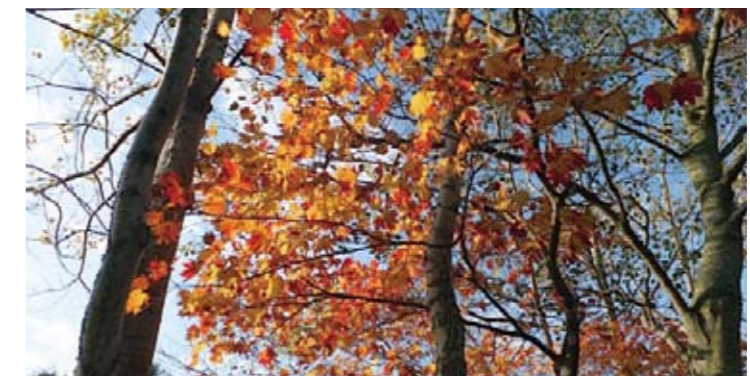
染色体ワークショップと比較的分野の重複したこの核ダイナミクス研究会がなぜ開催されているのか？今回参加するまで知らなかったが、染色体ワークショップに比べて「格式にこだわらない」「preliminaryなレベルの結果をざっくばらんに議論できる」という、いわば染色体ワークショップのサテラ

イト的に始まった研究会なのだそうである（原口徳子先生談）。この話を聞いてあらためて、なるほどと納得いった。若手が元気よく発表していた姿がとても印象に残った。

研究会とは、そもそも関連分野の人が研究成果を持ち寄って議論するための会であり、分野の盛衰とともに内容や参加者の顔ぶれなどどんどん移り変わって行くものなのだろう。核ダイナミクス研究会もほぼ同名の特定領域研究と平行して研究会が発展し、今回10回目を迎えている。研究会をいつまで続けるのか、今後さらに規模を大きくすべきなのか、だれが世話人をするのかなど、研究会を続けるにはそれなりのエネルギーが必要である。もともと研究会を立ち上げた時の情熱

（エネルギー）を次の世代に受け継いでいってもらうのは難しいが、二泊三日の缶詰スケジュールで生まれた人とのつながりや研究の縁は、なかなか他の研究会では得られないものだと思う。次回の核ダイナミクス研究会は、親分研究会である染色体ワークショップとの共催になるようである。このような研究者の縁を作る研究会として、両方の研究会が刺激を受け、ますます発展していったら良いと思う。

最後に、本研究会をオーガナイズして下さった村上洋太先生、裏方で見事なチームワークで動いてくれた村上研のスタッフ、学生さん達、また写真を提供してくれた田上英明先生にこの場を借りて感謝したい。



学会見聞録 2 「第 62 回 染色体学会に参加して」

中山 潤一

2011 年 11 月 11 日～13 日に神奈川県平塚キャンパスで行われた染色体学会に参加した。私自身染色体学会の会員ではないが、幹事を務められている理研の小野教夫先生から、今回の学会での企画シンポジウム「形態と分子の対話」での講演を依頼され、今回非会員として初めて参加させていただいた。

JR 平塚駅からバスに乗って町外れを走る約 20 分、神奈川県大学のきれいなキャンパスにたどり着く。世話人は神奈川県大学の安積良隆先生で、大学内のホールを借りての開催である。神奈川県大学は初めて訪ねるが、この大学がなんとなく馴染みがあるように感じるのはおそらく箱根駅伝のせいだろう。キャンパス内にも大きなグラウンドやサッカー場が併設され、スポーツヘリを入れている様子がかがえた。

染色体学会、年会の数が今回で 62 回を数えるように、とても歴史のある学会である。普段出入りしている研究会やワークショップとは違い、勝手に分からず、また周りを見渡しても知り合いがいなかったため、やや場違いな印象のまま席に着いた。今回の学会の参加者はおおよそ 100 人程度。研究発表では皆スーツを着て身なりをきちんとして発表しており、やはり歴史ある学会としての趣が感じられた。

さて、その学会発表の内容であるが、実に興味深かった。最も印象的だったのが研究対象としている生物種の多さである。自身が普段出入りしている研究会がいかにもモデル生物の研究に特化しているのか改めて気づかされた。例えば実際聞き慣れた生物としては、出芽酵母、分裂酵母、線虫、シロイヌナズナ、アフリカツメガエル、ショウジョウバエ、マウス、ヒト、この程度である。それに対して今回の学会で出てきた生物種は、普段モデル生物として目にするのがほとんどない、ミドリムシ、ササグモ、スズメガ、ハムスター、

ハリネズミ、チンパンジーなど、実に多種多様であった。モデル生物を使った研究が、その利点を生かしどんどん細かい分子の方向へ突き進んでいるのとは対照的に、染色体の進化や種分化の解明を目指す本学会では、幅広い生物種が研究対象であり、別の意味での奥深さを感じさせられた。私自身、元来昆虫などの生き物を見たり飼ったりするのが好きという、自身の嗜好を背景にこの分野に足を入れた身であり、このような多様な非モデル生物を対象とする研究はとても魅力的に見えた。反面、企画シンポジウムとは言え、このような学会で分裂酵母やヘテロクロマチンといった自身の「かなり細かい」分子を話すのはとても気が引けたが、仕方がない。私の発表を聞いて面白く思ってくれたら幸いである。

このように魅力的な学会に見える一方、学会として抱える問題もあるらしい。やはりそれは分子を中心にした研究分野との距離であり、それを埋めよう、あるいは狭めようという試みが今回の企画シンポジウムだそう。今回参加して気づいた事として、染色体の形態から染色体の進化を研究している多くの研究者の口から、ヘテロクロマチンという単語を耳にしたことである。染色体の進化を考える上で、なぜ

非コード DNA 領域から形成されたヘテロクロマチンがここまで広く存在し染色体の機能に深く関わっているのか、あらためて自分の研究の問題点が浮き彫りにされたように感じられた。円口類のヌタウナギでは生殖系列の細胞と体細胞では持っている染色体数が異なり、分化の過程で多くの染色体を放出することが知られている。詳しく文献を調べたわけではないが、放出される染色体の多くは単純反復配列から成りヘテロクロマチン化しているらしい。生殖系列の細胞でこのような一見役に立たない染色体を保持している理由は何なのか。分子との接点を探る染色体学会ではあるが、逆に分子中心の研究者も、今後幅広い生物種での現象に目を向けることが重要になってくるのかもしれない。

最後に、本学会に丁寧に招待して頂いた世話人の安積良隆先生、小野教夫先生にはこの場を借りて感謝したい。また下の写真は、本学会の会員から提供してもらった写真と染色体像を基にして作った震災復興のためのチャリティーカレンダーだそうである。興味のある方は一部 600 円で購入できるそうなので問い合わせてもらえたら幸いである。



新学術領域研究「ゲノムを支える非コード DNA 領域の機能」今後の予定

2012 年	2 月	技術講習会「人工染色体作製」(担当: 舂本)
	2 月	第 2 回領域会議 (担当: 高田)
	4 月	第 1 期公募班員の決定
	7 月	技術講習会「ChIP-seq」(担当: 加藤・山田・太田)
	7 月	第 3 回領域会議 (担当: 太田)
2013 年	8 月	高校生対象「生命科学への誘い」(担当: 赤松・小林)
	2 月	第 4 回領域会議 (担当: 梶川)
2014 年	7 月	国際シンポジウム「インターメアと進化」(担当: 印南・梶川・小林)
	7 月	第 5 回領域会議 (担当: 印南)
	11 月	国内ワークショップ「インターメアによる染色体制御機構」(担当: 太田・菱田)
2015 年	1 月	第 6 回領域会議 (担当: 菱田)
	2 月	市民公開講座「ゲノムの調べ」(担当: 小林・須賀・有吉)
	4 月	第 2 期公募班員の決定
	7 月	第 7 回領域会議 (担当: 舂本)
2016 年	2 月	第 8 回領域会議 (担当: 加納)
	7 月	国際シンポジウム「インターメアによる染色体制御機構」(担当: 中山・高田・加納)
	7 月	第 9 回領域会議 (担当: 中山)
2016 年	3 月	終了国内シンポジウム「インターメアによる染色体制御機構」(担当: 小林)

ncDNA
NEWS LETTER

「ゲノムを支える非コード DNA 領域の機能」
文部科学省科学研究費補助金 新学術領域研究（研究領域提案型）

VOL. 1 2011 December

編集後記

小林代表を中心として新しく本新学術領域が発足した。異なる背景の研究者の知恵と技術を融合させることで、未開の研究領域である非コード DNA 領域の機能解明を目指していきたい。また次号のニューズレターを発刊する時には、十数名の公募代表者を迎えさらに新学術領域としてパワーアップするものと期待される。昨今東日本大震災の復興や政治の停滞、また欧州の経済不安など、テレビをつければ鬱々とさせられるニュースばかりのような気がする。もちろん私達が直接何かを出来るわけではなく、また自分たちの研究の推進が最も重要なことではあるが、その研究の傍ら一般の人に「ゲノムの不思議」「謎だらけの非コード DNA」などを紹介し、基礎研究のすばらしさを知ってもらい、また我々の成果によって「へ～」と思ってもらえる、そんな領域を目指していきたい。本ニューズレターがそんな「明るい」情報発信の一助になれば幸いである。(JN)