

2

ncDNA
N E W S L E T T E R

「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）

2012
J u n e

ncDNA
N E W S L E T T E R



「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 2 号

2012 年 6 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	3
無駄なるものの存在理由	4
公募研究の紹介	
□ インターメア機能配列の情報量規準と機械学習による同定および進化的解析	5
□ セントロメアと微小管の位置関係による染色体分配制御機構の解明	6
□ 減数分裂特異的コヒーシン複合体による相同染色体の構造変換と対合に関する解析	7
□ 胚操作によって誘導されるエピゲノム変化	8
□ 機能性非コードDNA領域が制御する分裂酵母接合型変換の動態解析	9
□ Alu配列と遺伝性疾患の病態に関する研究	10
□ 複製ポリメラーゼβによる複製フォークの安定化機構の解明	11
□ 卵母細胞核小体によるヘテロクロマチン確立機構の解明	12
□ 非コードDNA領域によるゲノム複製タイミング制御機構の解明	13
□ 染色体を折り畳むためのDNA領域の機能	14
□ SMC複合体による姉妹染色分体の構造変換制御	15
□ 転写因子ATF-7を介した、ストレスによるテロメアの長さの変化と老化の促進	16
□ CpGアイランドを制御するCXXCタンパク質の機能解析	17
□ 染色体の核内高次構築を支配する非コード領域とそれを制御するタンパク質の解析	18
□ 相同染色体認識における非コードDNAの役割	19
学会見聞録	20-21
学会・シンポジウム「第1回領域会議」	22
今後の予定	23
編集後記	23

膨張し続ける「脳」と「非コードDNA領域」

東北大震災から1年余が過ぎ、それ以前にはなかったいくつかの問題が世の中に出てきました。原発問題もその1つです。核融合技術は20世紀の基礎科学の中でもっとも実用化に成功した一例ですが、震災によりその夢の技術が人類に牙を剥きました。安全神話が壊れた原発を我々は持ち続けるのか、それとも放棄すべきなのか？この決断はもちろん最終的には市民そして政治が下すべきことですが、難しいのはその判断材料となる放射線のリスクについて、人々はどれほど理解しているのでしょうか。この点に関しては科学者に説明の義務があると思いますが、現状でははっきりとした見解が出ていないように思われます。人々の科学技術、あるいは科学者に対する不信感もまた震災後に出てきた1つの問題でしょう。

技術的な進歩は有効なものであればあるほど、使い方を間違えると大惨事になることは、原発も含めて人類の歴史が証明しています。人々の中にはもう危ない技術はいらない、例えば40年前の生活に戻れば原発などなくても電力は十分に足りるではないか、という考えの方もおられるようです。確かにその頃の生活レベルでは地球温暖化等の地球規模での自然破壊の心配もありません。実際に世界に目を向けると、電力に対する依存度が低い国はまだたくさんあります。問題は日本も含めて先進国といわれる国々が、時代に逆行したようなことができるかどうかです。

私はおそらくそれは難しいのではないかと考えます。理由は単純でヒトの脳はそのような「逆行」を受け入れるようには出来ていないからです。これはヒトのもつ知的好奇心のためであると言ってもいいかもしれません。ヒトは誰に頼まれることなく、新しいものを作りたがるし、いろんな所に行きたがるし、自然の仕組みを解明したがる生き物です。これがヒトの本性です。そしてこの知的好奇心がさらに濃縮されているのが科学者と言われる人たちです。本性だからなにをやっても許されるという訳ではもちろんありませんが、このヒト特有の性質を無視してはおそらく有効な政策はできないでしょう。

ヒトが進化し「知的好奇心」を獲得して以来、その連鎖、増幅反応により、ヒトの脳は物理的にも内容的にも大きくなり続けています。そしてここで登場してくるのが我々が「非コードDNA領域」です。ヒトと他の霊長類（例えばチンパンジー）の違いの多くが、この領域に存在すると考えられています。つまりヒトの知的好奇心の源もこの「非コード領域」に潜んでいるわけです。さらに面白いことには「非コードDNA領域」も脳同様に膨張し続け、今ではゲノムの大半を占めるようになりました。

このヒトの知的好奇心の基盤を支える非コードDNA領域の「膨張機構」の解明も、当領域の1つの使命です。



領域代表
小林 武彦
国立遺伝学研究所

寄稿文

無駄なるものの存在理由

太田 邦史

東京大学 大学院総合文化研究科

生物にとって「多元性」や「無駄」を保持することが、生き残りに大変重要な意義を持っているのではないか。最近筆者が思いを巡らせていることの一つである。また、このような「多元性」や「無駄の存在は、生物だけではなく、企業や社会のような人間集団の存続にも重要なように思える。

拙著『自己変革する DNA』でも取り上げたが、アリの社会に関する興味深い話がある（『働かないアリに意義がある』長谷川英祐著、メディアファクトリー新書）。長谷川氏によると、アリの集団ではワーカーの 8 割が働いているが、残りの 2 割は何もしていないように見える。この 2 割のアリは、普段、集団にとって全くの無駄らしい。

ところが、もしワーカー・アリが 100% やる気満々で常時働いていると、予期せぬ非常事態が生じた場合に、全員がオーバーワークとなって疲れ切り、結果的に集団の維持ができなくなってしまうらしい。つまり、アリは環境変動に対応する生存のマージンとして、「無駄」や「ゆらぎ」を作っているらしいのである。

これに関連して最近気になる報道があった。ソニーやパナソニック、シャープといった名だたるテレビメーカーの経営不振が報道されたのである。昨年度、これらの企業は数千億円もの損失を出したという。経済評論家によれば、これらの企業がすでにコモディティ化（製品の特徴による競争力が無くなり、価格のみで勝負が決まる商品）した薄型ディスプレイの市場にしがみついているため、著しい損失を出したとのことである。これらの企業に対する今後の処方箋としては、「選択と集中」によって「無駄」な領域となった薄型ディスプレイ部門をリストラし、利益の出る領域に再度重点を置いて出直すしかない、という意見が多い。

しかし、一頃シャープなどは「液晶のシャープ」とか「一本足打法」と

いわれ、経営資源を液晶に「選択と集中」し、成功した企業の代表例として語られていた。それから 2 年も経たないうちに、「一本足打法」の方針が悪かったと言われるのも随分と酷な話だ。ソニーやパナソニックにしてみても、相当のリストラをしてこれまでに無駄を切り捨て、「選択と集中」を行ってきたはずである。

一方で、同じような家電も扱う日立製作所はこれとは異なり、業績が絶好調で、昨年度は過去最高の利益を上げたそう。これに対する評論家のコメントとしては、うまく「選択と集中」が進められからとのことだそうである。実際には日立は、家電以外にもインフラ関連の重電部門や、白物家電、ハードディスクなどを幅広く手がけ、かつて評論家が「何でもやっていて、選択と集中が苦手な会社」の代表例として挙げるような企業だった。

このような電機メーカーの「選択と集中」のパラドックスをどのように捉えたら良いのだろうか。さまざまな国際的な金融市場の混乱や、円高などにより、外部環境が変化したとき、実際にサステナブルな経営ができたのは多元化戦略をとる日立であった。つまり、アリの集団と対比して良いか疑問は残るが、企業がサステナブルな経営を行う上でも、多元性や無駄の部分が重要な役割を果たしたと考えられる。（断っておくが、日立が無駄の多い企業と言っているわけでは無いので、念のため。）

何でも「遊び」や「無駄」、「多元性」の部分がないと、予想以上の危機（大体人間の予想を超えているから危機になるのだが）がやってきたとき、取り返しのつかないような大きなダメージを被る。ハンドルの「遊び」や、赤信号と青信号の点灯の「間」なんかも、無いと大変な危険が生じる。そのダメージがあまりにも甚大で、それまでの生存上のメリットを凌駕してしまうのである。

最近日本で起きている事故や事件の多くが、「無駄を切り詰めすぎていることが背景にあるのでは無いか。たとえば、福島原子力発電所の事故や、長距離バスの事故など、枚挙すればキリが無い。日本はもうそろそろ「無駄切り」も限界に近づいているのでは無いだろうか。これ以上日本が回復不可能なダメージを受ける前に、この点を指導者層の人間によく考えてもらいたいものである。

ところで、生物にとって「無駄なもの」といわれて久しいものの代表例と言えば、「非コード DNA 領域」であろう。本領域の研究が進捗するにつれて、生命が作り上げてきた壮大な「無駄」の意義が明らかになってくるだろうと期待している。そして、人間社会にとっても一見「無駄」と思われがちな「基礎科学」や「文化」の意義も、少しは明確に見えてくれればと願っている。



公募研究の紹介

インターメア機能配列の情報量規準と機械学習による同定および進化的解析



遠藤 俊徳

北海道大学 大学院情報科学研究科

「インターメア」は過去にはジャンク DNA と呼ばれたこともあり、最近まであまり重視されて来なかった。しかしゲノム配列が明らかになり始めた頃から、マイクロ RNA のような発現制御に関わる配列が見つかるなど、未知の配列が存在する可能性が広がってきている。また、進化的観点からみれば、染色体部分重複の産物であったり、組み換えを生じやすい部分であったりと、過去の進化の痕跡や今後の生物進化の材料となる配列の可能性がある。

本研究提案では「インターメア」に特化した種間配列比較解析の方法を確立し、主要なモデル生物について、機能配列を提示すると同時に、生物間における機能配列の進化的関係性を明らかにする。新たな方法確立が必要な理由は次の通りである。既存の種間配列比較解析方法は、配列相同性に基づいて保存領域を同定する方法をとっており、事前知識があることが主な前提と

なっているため、事前知識の少ない「インターメア」には適用が難しい。既存の遺伝子領域推定技術は、タンパク質コード遺伝子周辺配列の確率論的特徴を捉えることによって遺伝子領域らしさを測り、推定を行うため、やはり「遺伝子領域らしさ」を特徴づける事前知識が要求される。一方、単純な配列類似性によって網羅的に特徴配列を抽出しようとする力づくのアプローチは、機能配列の多態性のため、計算量 (time complexity) の問題から現実的でない。以上を踏まえ、効率的な確率論的配列パターン抽出と、機械学習などを用いた特徴抽出、およびそのための評価関数の確立を多面的に試行することによって目標達成を目指す。また、実験的に得られた機能配列情報を、情報科学的に抽出されたものとは区別された形でデータベース化し、推定用のツールを提供する。



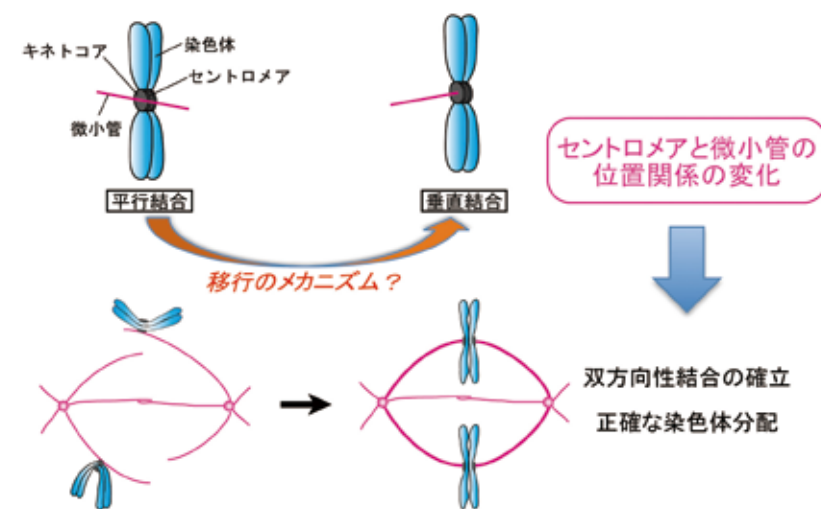
セントロメアと微小管の位置関係による染色体分配制御機構の解明

非コード DNA 領域（インターメア）であるセントロメアは、細胞分裂期における空間的機能単位として染色体分配に必須な役割を果たしています。その機能はキネトコアを介した微小管との相互作用によって行われますが、セントロメアはキネトコアが構築されるプラットフォームであるだけでなく、キネトコアと微小管の結合の調節に積極的に関与しています。染色体が分配される際には、微小管はセントロメアに対して垂直に位置します（ここではこれを垂直結合と呼びます）。この他にその前段階として、微小管がセントロメアに対して平行に位置する状態（平行結合と呼びます）が存在することが知られていますが、垂直結合と比較して体系的な研究は行われていません。最近この平行結合が、微小管と染色体が相互作用する際の一過性のものではなく、均等な染色体分配のための重要なステップである可能性が示唆されています。そ

こで本研究では、染色体分配の過程を微小管とセントロメアの位置関係の変化という新たな視点からとらえ、セントロメアによる染色体分配制御機構を再構築することを目指します。この目的のために、平行結合に関与する分子を同定し、平行結合の成立および垂直結合への移行のメカニズムを明らかにします。このメカニズムは効率的で正確な微小管と染色体の結合の成立に関係すると考えられ、非コード DNA による染色体制御の重要な側面が明らかになるのではないかと考えています。またこのメカニズムの異常は、染色体の不均衡な分配による染色体不安定性を通じてがん化と関連することが予想されるため、がんが発生するしくみの理解にもつながるのではないかと考えられます。本研究を通じて、当研究領域が目指すインターメアによる染色体制御の解明に、セントロメアによる空間的制御という側面から貢献したいと思います。



田中 耕三
東北大学 加齢医学研究所



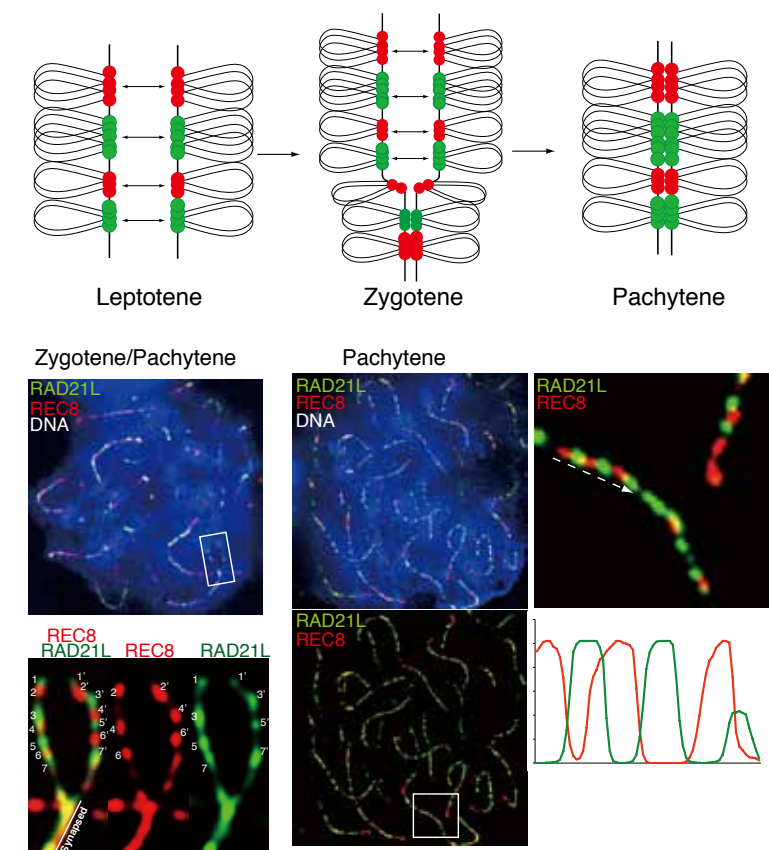
減数分裂期特異的コヒーシン複合体による相同染色体の構造変換と対合に関する解析



石黒 啓一郎
東京大学 分子細胞生物学研究所

減数分裂期では相同染色体どうしの対合と組換えによる二価染色体の形成を経て、体細胞期には見られない染色体構造の劇的な変化が生じている。とりわけ Axial Element(AE) と呼ばれる減数分裂に特有の染色体軸構造がコヒーシン複合体によって構築されることが示唆されている。本研究は生殖細胞における減数分裂特異的コヒーシン複合体の役割を AE 構造の形成と相同染色体のペアリングの観点から探ることを目的とする。最近我々は減数分裂特異的な新規コヒーシンサブユニット RAD21L 型コヒーシンを同定し、REC8 型コヒーシン複合体とは相互排他的局在パターンを示すことを明らかにした。さらに、この両コヒーシンの相互排他的局在パターンがバーコードの様に作用して正しい相同染色体のペアリングを促進するという cohesin code 仮

説を提唱した。高等動物のように反復配列を多く持つゲノム上での相同染色体のペアリングを考えた場合、non-allelic な組換えのリスクを避けるためにも DNA 配列レベルでのホモロジーサーチとは別のレベルでの制御が想定される。そこで本研究ではコヒーシン複合体が相同染色体の初期ペアリング過程において相同組換えの機構とは独立に積極的な関与を果たしている可能性について検討を行う。さらに RAD21L 及び REC8 コヒーシン複合体のゲノム上での局在を規定する DNA 配列の同定を行い、非コード DNA 領域が相同染色体のペアリングに寄与している可能性について検討する。本研究の目論みが成功した場合には、減数分裂特異的コヒーシン複合体と非コード DNA 領域との関連に新たな展開をもたらすものと期待される。



相同染色体のペアリング・対合における cohesin code 仮説

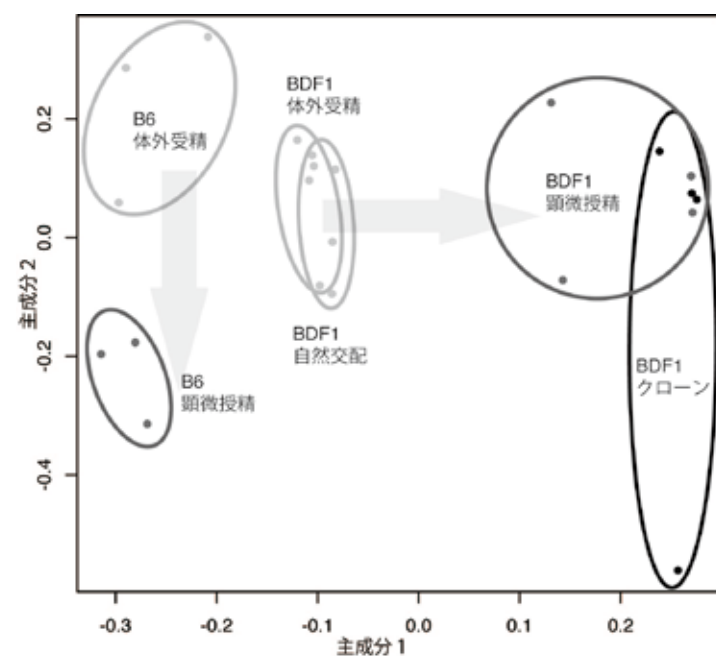
胚操作によって誘導されるエピゲノム変化

哺乳類の発生でゲノム全体の遺伝子発現のプロフィールは発生に従って厳密にプログラムされて変化してゆきます。私たちは、発生が始まる受精のタイミングで行われる顕微授精などの胚操作が発生の過程を通して消えない遺伝子発現の変化を引き起こすことを見だしました。面白いことに、この影響は用いるマウスの系統を変えると影響を受ける遺伝子も変わってくることが分かってきました。一方で最近、マウスの系統間でのゲノムの配列の違いが詳細に明らかにされ、その多くは反復配列を含むゲノムの非コード領域の違いであることが明らかにされています。この研究では、マウスで顕微授精によって誘導される遺伝子発現

変化をモデルとして、哺乳類の受精時にゲノムが受けた影響に対する応答と、ゲノムの非コード領域の配列の違いに着目して研究を進めます。受精直後から着床までの初期胚で、マウスの系統を変えて mRNA-SEQ 遺伝子発現プロフィールを解析し、その多型情報を用いて父親由来、母親由来のアレルに分けて zygotic gene activation の起こる詳細な過程と、顕微授精の影響を明らかにします。更に、非コード領域のゲノム配列の系統間での違いと遺伝子発現の変化を比較することで、どのような配列が外界からの刺激に応答してエピジェネティックな変化を引き起こすかを明らかにします。



幸田 尚
東京医科歯科大学 難治疾患研究所



顕微授精によって生まれたマウスの出生時の肝臓の遺伝子発現プロフィールの主成分分析。用いるマウスの系統が異なると遺伝子発現プロフィールと、顕微授精による影響が異なってくる。

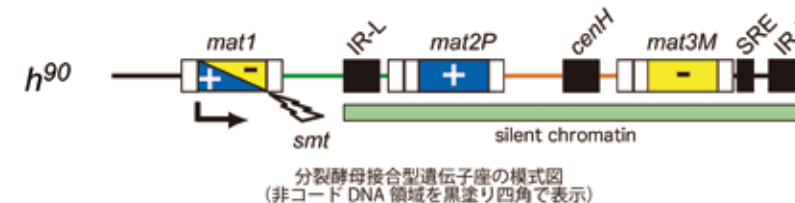
機能性非コード DNA 領域が制御する分裂酵母接合型変換の動態解析



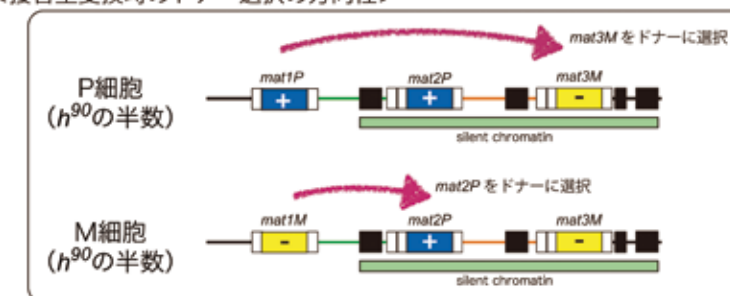
筒井 康博
東京工業大学
大学院生命理工学研究科

生物に普遍的な生命現象である DNA 相同組換えは、生物種多様性の創出のみならず、DNA 修復にも直接的に働きゲノムの安定維持機構に深く関わっています。これまでの様々な研究により、その分子機構の理解は著しく深まりました。しかしながら、核内に存在し空間的に大きく離れた相同な DNA（もしくは、染色体）をどのように検索するのかというマクロ分子としての空間的機能理解は極めて乏しいのが現状です。そこで、相同組換えにおける染色体動態を解析するモデルとして分裂酵母の接合型変換に着目しました。分裂酵母の接合型変換は、接合型を決定する（アクティブな）mat1 遺伝子座がサイレントなドナー（mat2P あるいは mat3M）との間で DNA 組換え（一方

向性の遺伝子変換）を起こすことで生じます。この際のドナー選択はランダムではなく明確な方向性が存在することが古くから知られていましたが、その方向性の制御に Swi2、Swi5、Swi6 などのタンパク質に加えて、複数の非コード DNA 領域（インターメア）が関わっていることが近年明らかになってきました。本研究では、空間的近傍に位置する染色体領域の検出に優れた解析手法である Chromosome Conformation Capture(3C) 法によって、接合型変換における 2 つの相同な DNA の核内動態の経時観察するとともに、非コード DNA 領域がどのように染色体空間配置を制御するかについて明らかにしたいと考えています。



<接合型変換時のドナー選択の方向性>



様々な変異株を用いてクロマチン高次構造を 3C 法で解析し、接合型変換時の 2 つの相同な DNA の核内動態を解明したい

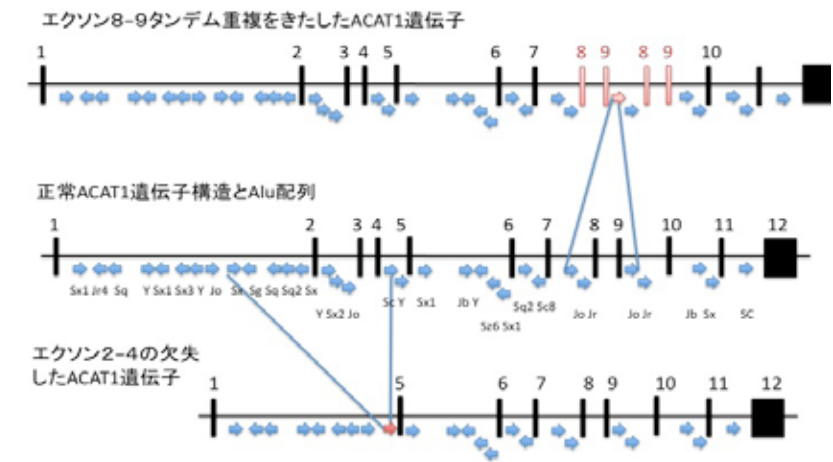
Alu 配列と遺伝性疾患の病態に関する研究

Alu element はヒトゲノム中の 100 万コピー以上もあるとされ、全ゲノムの約 10% を占め、霊長類の進化とともに出現した。Alu element はこれまで意味のない配列と考えられてきたが、最近遺伝性疾患における Alu 配列の関連する病態が報告されてきた。我々は、これまで小児科の先天代謝異常症および臨床遺伝を専門として、ケトン体代謝異常症の分子病態の解析を行ってきた。その中で、遺伝子内における複数のエクソンの欠失、挿入などの遺伝子再構成を伴う症例を経験し、それがイントロン内の Alu element 間での non-equal homologous recombination によることを、組み換え領域の配列を解析する事

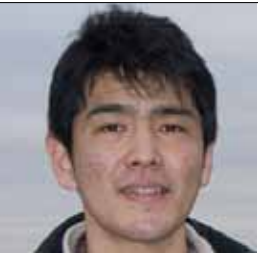
で報告してきた。Alu element の機能についてはいくつか報告があるが、報告例は少なく実際例の積み重ねが必要である。今回我々は β -ケトチオラーゼ (ACAT1) 欠損症、サクシニル-CoA:3-ケト酸 CoA トランスフェラーゼ (OXCT1) 欠損症における Alu element について 1) Alu element 間での組み換えによる DNA 断片の重複、欠失誘導の実際例の解析 2) イントロン内の Alu element のスプライシング（エクソン認識）に対する影響の検討を行って Alu element の遺伝性疾患の病態への関与、Alu element のゲノムにおける意義について検討していきたい。



深尾 敏幸
岐阜大学 大学院医学系研究科



複製ポリメラーゼ δ による複製フォークの安定化機構の解明



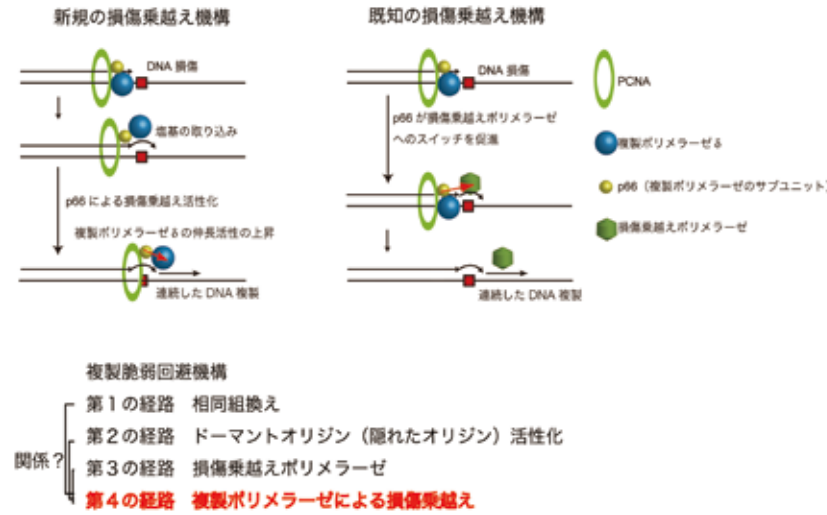
廣田 耕志
首都大学東京 大学院理工学研究科

ゲノムには絶えず内的、外的要因によって DNA 損傷が導入されている。生物は、ゲノムが絶えず DNA 損傷を受け続ける中で、ゲノムを安定に維持する機構を獲得している。ゲノムの不安定の一因となるのは、DNA 複製が損傷した DNA で停止することである。また、非コード DNA 領域には、複製脆弱部位が多く存在する。複製脆弱部位は、(1) 反復配列や DNA 損傷による複製の停止、(2) 複製オリジン密度の低い部位での複製不完了、等の機構で発生する。DNA 損傷による複製の停止は、損傷乗越え機構によって解除される。これまでのドグマとして、複製ポリメラーゼ δ は損傷部位にヌクレオチドを挿入できず、他の特殊なポリメラーゼが損傷乗越えを行うと信じられてきた。

我々はこれまでに、複製ポリメラーゼ δ 自身による損傷乗越えの新機構を発見している。反復配列による脆弱部位での複製フォー

クの安定化にも、複製ポリメラーゼ δ が関与する予備的知見を得ている。一方、ドーマントオリジンは、複製が停止やオリジン密度の低い部位での複製不完了のバックアップの複製起点となることが知られている。本研究では、複製ポリメラーゼ δ に着目し、(1) と (2) の脆弱性回避機構を DT40 細胞で解析し、複製ポリメラーゼ自身による損傷乗越えと、他の複製脆弱回避機構との関係について解明する。さらに、これらの DNA 代謝反応はクロマチンという環境下で行われ、その制御が重要であることが知られている。我々は、DNA 複製や修復時に寄与するクロマチン制御機構についても解析を行い、非コード DNA 領域でのクロマチン制御と複製、修復との関わりについて解明する。

本研究班では、非コード DNA 領域の複製を経た恒常性の維持や、クロマチン制御による染色体恒常性の維持機構の解明を行う。



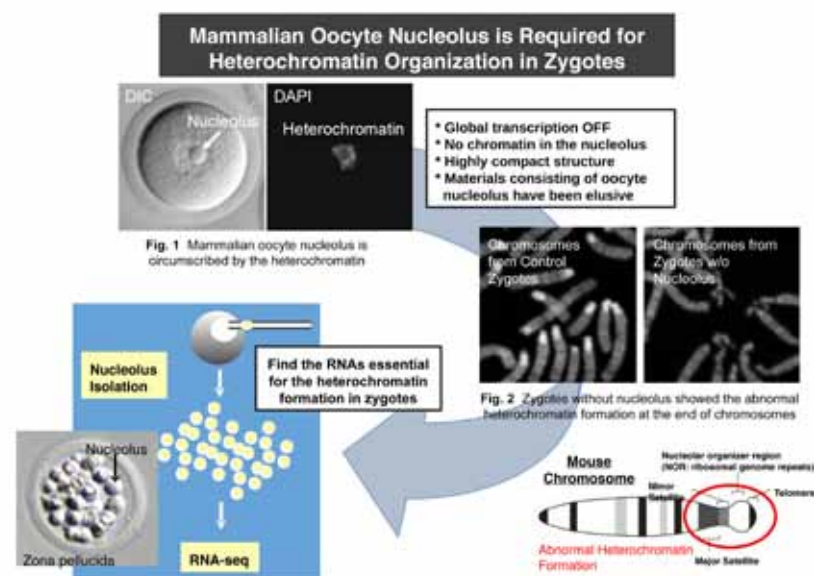
卵母細胞核小体によるヘテロクロマチン確立機構の解明

ヒトの体は約 200 種類の 60 兆個にもなる細胞から構成されている。個々の細胞内には様々な細胞小器官、構造体が存在し、生命活動の維持に必須の役割を担っている。核小体は細胞核に存在する明瞭な球状構造体であり、タンパク質合成を担うリボソームを構築する場として主に知られている。しかし、哺乳類卵母細胞では転写が完全に抑制されており、核に明瞭な核小体構造が存在するもののその内部にリボソーム RNA 遺伝子が存在しない。そのため、この核小体はリボソーム合成に関わっていないと考えられ、長年その機能は不明であった。我々は顕微操作により核小体を取り除く技術を開発し、卵母細胞核小体が初期胚発生進行に必須であることを明らかにした。また核小体を除いた受精卵はタンパク質合成を正常に行うことからリボソーム合成以外の核小体の機能が示唆された。最近、核小体を

除いた受精卵の核ではヘテロクロマチンの高次構造に異常が観察され、その後の第一分割で染色体の末端部のヘテロクロマチン構築に異常が生じることを発見した。マウスの染色体の末端部にはセントロメア、リボソーム RNA 遺伝子（rDNA）リピート領域、テロメアという非コード DNA 領域が密集している。核小体の因子もしくは構造が非コード DNA 領域のヘテロクロマチン構築を制御することでゲノムの安定な伝播、染色体の構造維持に関与している可能性があると考えている。本研究では卵母細胞核小体に存在する核小体 RNA を RNA-seq 法によって同定し、それらの候補の中からセントロメア、rDNA リピート領域、テロメアといった非コード DNA 領域のヘテロクロマチン構築制御に関与するものを同定することを目的としている。



大串 素雅子
京都大学



非コード DNA 領域によるゲノム複製タイミング制御機構の解明

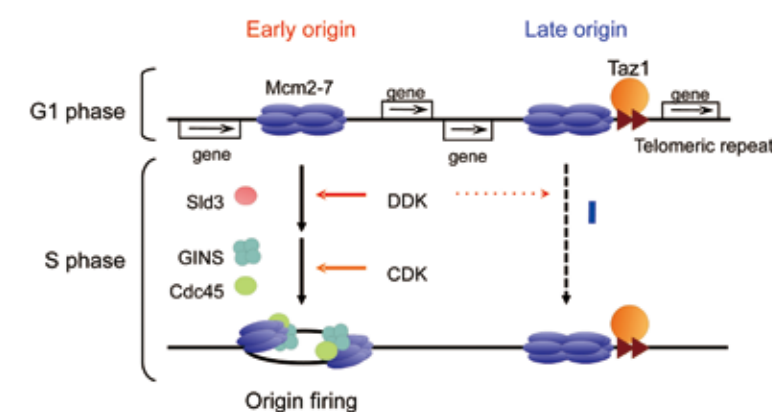


升方 久夫
大阪大学 大学院理学研究科

非コード領域が担う機能の多くはいまだ未解明であると推定されます。では「複製開始点」のように以前から知られている非コード DNA 機能についてどこまで明らかになっているかという、私たちの理解は驚くほど限られています。例えば、複製開始点は、酵母染色体には数百個、哺乳類では数万個も存在しますが、ゲノム DNA を倍加するという第一義的な目的のためには、個々の複製開始点は必須ではありません。にもかかわらず、特定の場所から複製を開始し、しかもそれぞれが S 期の決まった時期に複製開始するように制御されているしくみや意義はほとんど不明です。これらのしくみにはクロマチン構造が関与すると考えられてきましたが、具体的にどのような因子や構造が複製反応を制御するのかは明らかではありません。また多細胞生物の発生過程で複製タイミングが変化することから複製タイミング制御がクロマチン動態・遺伝子発現に関わるとも考えられていますが、どちらが原因なのか結果なのか明確にはなっていません。本研究では、特定の場所から

特定の時期に複製を開始するしくみと意義を解き明かしていくことが、非コード DNA の新しい機能の発見につながると考えています。分裂酵母染色体で S 期初期に複製を開始しない開始点（後期複製開始点）の近傍にテロメア配列が存在し、テロメア配列にテロメアタンパク質 Taz1/hTRF1 が結合して複製タイミング制御に関わることを見いだしました。Taz1 は染色体上にある後期開始点の約半数を制御しており、タイミング制御に主要な役割を果たすと考えられます。Taz1 はどのようなしくみで複製開始を抑制するのか、またなぜテロメア因子がこのような制御に用いられているのか、さらに Taz1 依存的タイミング制御がクロマチン動態や環境応答遺伝子発現など単細胞生物での分化に類似する現象に影響するのかを解明したいと考えています。染色体腕部での複製開始制御機構と染色体末端テロメア維持機構の機能連携も興味深いと考えています。

Telomeric repeats in non-coding region recruit Taz1 for replication timing control



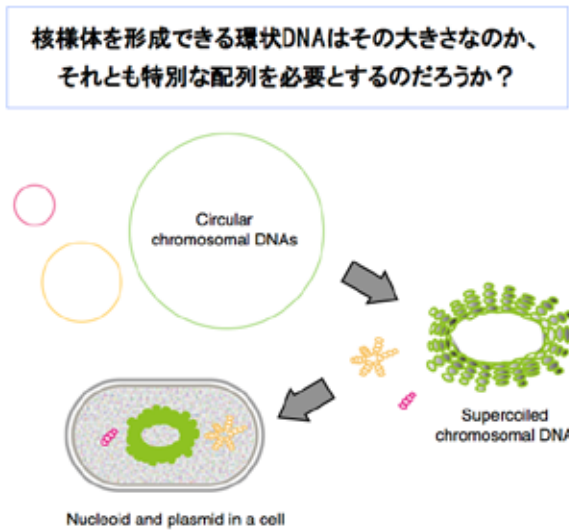
染色体を折り畳むための DNA 領域の機能

染色体 DNA は細胞内で折り畳まれることにより、その細胞長の千倍以上にもなる長い分子を安全に保持できる。これは、大腸菌などの原核生物にも当てはまる。そして、折れ畳みの基本原理である DNA の超らせん化とコンデンシンによる凝縮化という機構は、真核細胞と原核細胞の間で驚くほど共通している。またさらに凝縮化したバクテリア染色体が作る核様体は、細胞周期に応じてその位置や形を変え、時空間の制御を受けていることも判ってきた。本公募研究では、原核細胞のゲノム染色体の折り畳みに必要なゲノムの情報に着目し、その構造や配置を時空間で制御するゲノム内に隠された機能の解明に取り組む。まず核様体の本質的な機能を明らかにするため、大腸菌染色体の一部を切り取り、第二染色体として維持させ、バクテリア染色体の折れ畳みをの仕組みを研究する。すなわち、第二染色体をプラスミド DNA の大きさのレベ

ルから染色体 DNA の大きさのレベル（数千 kbp-720kbp まで）で解析し、細胞内でプラスミド DNA の構造から染色体 DNA の構造へと変換する過程を明らかにする。他方、細胞内で折り畳まれる染色体配列の特性についても、大腸菌のコンデンシンである MukB タンパク質の細胞内での機能解析を通じて明らかにしていく。MukB タンパク質の局在の研究から、MukB タンパク質は核様体当たり一個の凝集中心を形成することが知られている。これが染色体のどのような領域であるのか未だよく判っていない。第二染色体化した様々大きさの DNA 配列を使うことで、染色体 DNA 領域と MukB の凝集中心が規定されるメカニズムを調べることが可能である。また、MukB 欠損変異株から復帰変異株を分離しており、この変異株から染色体凝縮を補正しているメカニズムを明らかにする。



仁木 宏典
国立遺伝学研究所



SMC 複合体による姉妹染色分体の構造変換制御



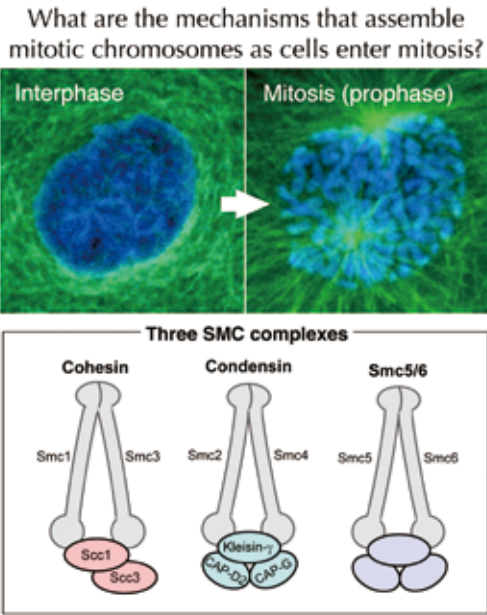
広田 亨
公益財団法人がん研究会

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、国内外の研究者的研究によって、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。



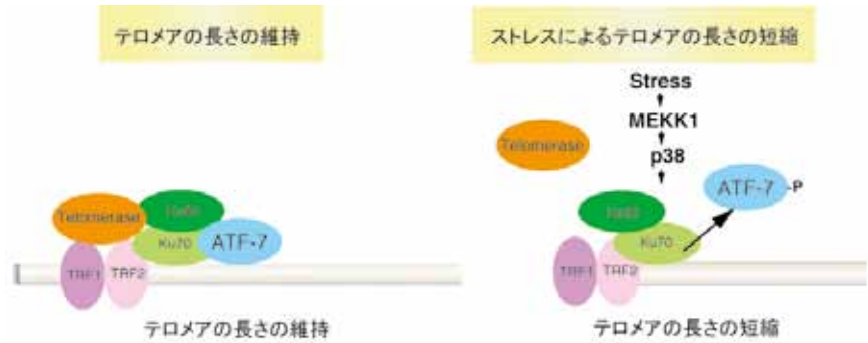
転写因子 ATF-7 を介した、ストレスによるテロメアの長さの変化と老化の促進

ATF-2 は、私達が最初に同定した転写因子で、B-Zip タイプの DNA 結合ドメインを有し、CRE と呼ばれる配列に結合する。ATF-2 遺伝子ファミリーは ATF-2 と ATF-7、CRE-BPa の 3 つのメンバーから成り、TNF α や低酸素刺激、UV 等の種々のストレスによって活性化される p38/JNK によって直接リン酸化されて活性化される。私達はこれまでに、マウス変異体を解析し、ATF-2 が胎便吸引症や乳癌の発症、脂肪細胞への分化等に関与することを報告してきた。一方、ATF-7 遺伝子欠損マウスを作製・解析した結果、このマウスは中脳でのセロトニン受容体 5b の顕著な発現上昇によって自己受容体がシナプス間隙のセロトニン濃度を低下させ、行動異常を引き起こすことが明らかになった。ATF-7 の転写抑制メカニズムを解析するために ATF-7 複合体を精製した。その結果、Ku70 と Ku80、DNA-PK が結合していることが明らかになった。更に、ATF-7

と Ku70/Ku80 の結合は UV 照射によって、ATF-7 がリン酸化されたときに解離することが分かった。Ku70/Ku80 はテロメラーゼと相互作用する事が報告されており、テロメアの長さの維持にも必須の因子として知られているので、Atf-7^{-/-} MEF のテロメアの長さを定量的 FISH 法で野生型と比較した。その結果、Atf-7^{-/-} MEF のテロメアの長さは有意に短いことが判明した。ChIP 法を用いた結合実験では、ATF-7 はテロメアの DNA に結合しているが、UV 照射を受けてリン酸化されるとテロメアの DNA から解離するという結果が得られている。そこで先ず、ATF-7 がどのような仕組みでテロメアの長さの維持に関与しているのか、その分子メカニズムを探りたい。次に、ストレスによってテロメアの長さの維持機構がどのように変化するのか、ATF-7 の 51、53 番目のリン酸化に注目して、その生物学的意義を明らかにしたいと考えている。



前川 利男
独立行政法人理化学研究所



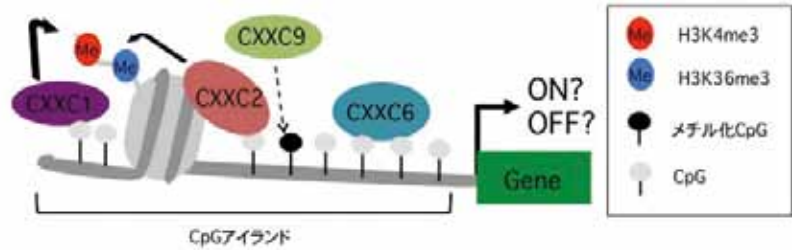
CpG アイランドを制御する CXXC タンパク質の機能解析



伊藤 伸介
独立行政法人理化学研究所

ゲノムの塩基配列には規定されない、いわゆるエピジェネティックな修飾は、個体発生・分化の過程において時間的・空間的に厳格な遺伝子発現制御を行う上で重要な役割を果たしている。このエピジェネティックな修飾には DNA のメチル化やヒストンの多彩の化学修飾（ユビキチン化、メチル化等）がある。DNA のメチル化は、DNA メチル基転移酵素が CpG ジヌクレオチド内のシトシンの 5 位の炭素にメチル基を付加することによって起こる。哺乳動物のゲノムでは約 80% の CpG がメチル化修飾を受けている。このような CpG における高頻度のメチル基獲得傾向と反して、一部の例外的なゲノム領域が哺乳動物には存在する。この領域は CpG アイランド (CpG island: CGI) と呼ばれ、平均して 1,000 塩基長の DNA 中に高い GC 含量、高密度の CpG ジヌクレオチドをもつ等の特徴をもち、一般的に DNA

メチル化を受けていない。興味深いことに CGI は、現在までに注釈のついた遺伝子の約 70% の転写開始点前後に存在してプロモーターとしての機能をもち、遺伝子発現を制御する上で非常に重要な非コード DNA 領域である。DNA 配列をみみると単に GC に富んだ領域ではあるが、転写因子やエピジェネティック修飾因子は CGI に結合し、巧妙に遺伝子発現制御を行っている。しかしながら、その制御機構はほとんど理解されていない。本研究課題では、メチル化を受けていない CGI に結合する CXXC ドメインをもつタンパク質に焦点を当てて解析して、CGI が DNA メチル化を受けない機構及び CGI による遺伝子発現制御機構を解明し、CGI の生物学的意義を理解することを目指す。



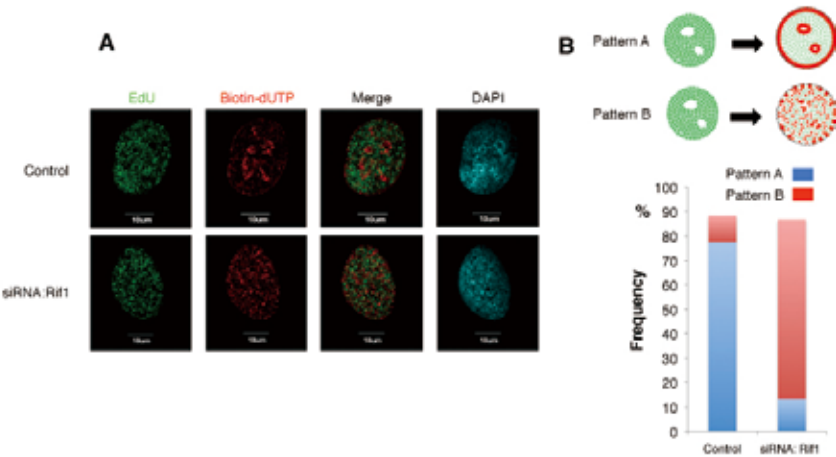
染色体の核内高次構築を支配する非コード領域とそれを制御するタンパク質の解析

染色体は核内で、機能ドメインに区分され、コンパクトにパッケージ収納されと考えられる。しかし、この染色体の機能ドメイン形成と核内染色体高次構築の制御機構とその核機能制御における役割は大部分不明である。最近の研究から、染色体複製のタイミングを規定する複製タイミングドメインは、細胞ごとに特有のパターンを示すゲノムワイドのエピゲノム情報であり、そのパターンは、染色体の機能ドメインと密接に関連していることが明らかになりつつある。私たちは分裂酵母の遺伝学的解析から複製起点の活性化のパターンを制御する因子を複数同定した。その中のひとつテロメア結合因子 Rif1 は分裂酵母の複製開始部位の選択とタイミングの制御に深く関与することを発見した。ヒト Rif1 ホモログは、テロメア制御には関与しないが、その発現抑制により、複製タイミングドメインがゲノムワイドで大きく変動することを見出した。

特に S 期中期の複製タイミングドメインが特異的に消失する（図）。又、Rif1 は M 期後期 /G1 初期にクロマチンの DNaseI 不溶性画分に結合し、そのパターンは S 期中期の複製 foci と共局在する。さらに、Rif1 はクロマチンループサイズを制御する。上記の結果から、Rif1 は、クロマチンループの形成を介して S 期中期の複製タイミングドメインを規定すると結論した。又、Rif1 は ES 細胞で大量に発現され、分化誘導と共に急激に減少する。本研究課題では、1) Rif1 が染色体の非コード領域との相互作用を介して、いかにクロマチンループの形成を制御するか、2) これが複製、組換え、転写等の染色体ダイナミクスを制御するメカニズム、3) Rif1 機能の細胞周期制御、4) Rif1 の未分化能維持における役割、5) 組織・臓器の発生の過程での Rif1 の機能、などの解析を通じて、Rif1 による核内染色体構築とその生物学的意義について解明したい。



正井 久雄
東京都医学総合研究所



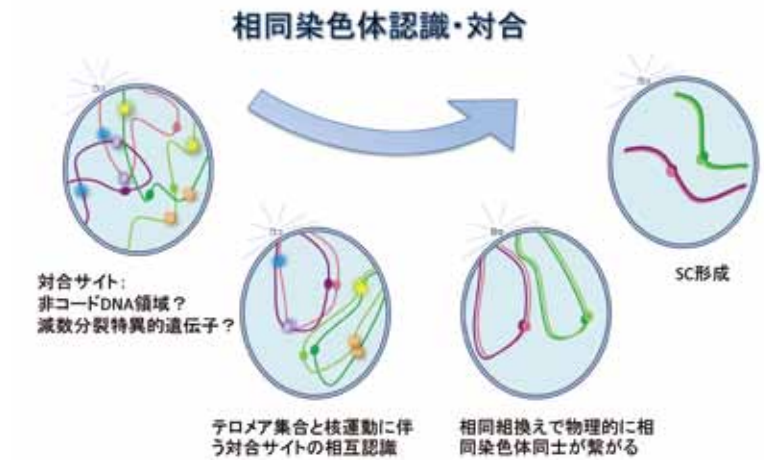
相同染色体認識における非コード DNA の役割



丁 大橋
独立行政法人情報通信研究機構

減数分裂期前期における相同染色体の対合・組換えは生命の継承と繁栄、多様性を創出するにもっとも重要なプロセスで、その失敗が染色体分配の異常を引き起こし、子孫の絶滅をもたらす。しかし、相同組換えの分子メカニズムが詳細に解明されている一方、対合のプロセスについてまだほとんど不明で、特に相同染色体同士が如何にして相手を見つけて認識するのかは大きな謎である。多くの生物では明らかに相同組換え（DSB 形成）を始まる前に相同染色体同士が綺麗に対になって並べることができることから、DSB 非依存的な相同染色体認識・対合のメカニズムの存在が強く示唆されている。我々はこれまでの研究から分裂酵母において本領域研究の提唱するインターメアが相同染色体の対合に非常に重要である

ことを明らかにしてきた。まず、減数分裂期前期のテロメア集合が相同染色体を空間的に近づけるに必須であり、テロメアを先頭にする染色体の往復運動は染色体を同じ方向に配向し、近づけさせる。さらに、最近の研究で、分裂酵母第 2 染色体の非コード DNA である sme2 領域が対合のホットスポットであることを発見した。sme2 遺伝子から転写される非コード RNA が減数分裂前期に染色体上に滞留し、RNA ドットを形成することによって相同染色体の認識・対合を促進する。本研究は sme2 非コード RNA による対合の分子機構を解明するとともに、さらに多くの対合に寄与する機能的非コード DNA 領域「インターメア」を同定し、相同染色体認識のメカニズムを明らかにしたい。



学会見聞録 1

HAC 講習会に行ってきました！

赤松 由布子

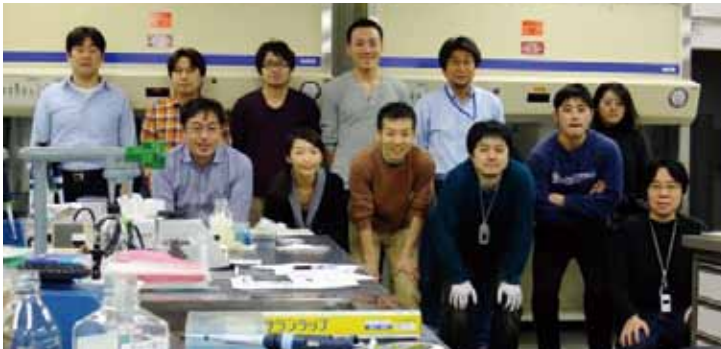
優れた実験系は一旦構築されると、多くの実験結果を生み出し、重要な発見をもたらします。但し、一つの実験系を構築するには、長い年月と沢山の労力が必要とされることが多く、その研究室の技術として継承されていきますが、例えば論文を読んだだけで他人が簡単に真似出来るものではありません。舩本寛先生（かずさ DNA 研究所）のヒト人工染色体（HAC: Human Artificial Chromosome）もその一つです。ヒトのセントロメアに存在するアルフォイド DNA の反復配列をクローニングして培養細胞に導入すると、新規に染色体の特徴が獲得され、宿主染色体外で安定して細胞に維持されます。舩本研究室では、HAC を駆使してセントロメアの構築機構を精力的に研究されています。しかしそれに加えて、HAC は「自立的に複製して、細胞分裂に伴って安定に娘細胞に分配される」という特徴を持つため、これまでに無かった高等真核生物のベクターとしてとても有用であると考えられます。

本新学術領域研究には、班員がもつ独自の技術をシェアして、共同して研究を促進するというとても良い目標があります。その一環として、2011 年 2 月 27 日から 3 月 2 日にかけて、舩本研究室の主催で HAC 講習会が行われ、私も参加させてもらいました。アクアラインを通して千葉県木更津市へ。市街地から外れて、山あいのような自然の中にかずさ DNA 研究所がありました。数年前にアメリカのメンフィスに先輩を訪ねたことがあります。広大な土地の雰囲気は少し似ていると思いました。

果たして、HAC という特殊技術を習ったところで自分のラボに帰って 1 人で扱うことが出来るのだろうか？と心配しつつ参加しましたが、講習会の最初に、舩本先生、クロモリサー

チの池野先生、舩本研の長谷川さんから HAC について背景と応用技術について説明を受けて、最初から HAC を作り出すのは大変だが、細胞内に既に存在する HAC には高確率で目的 DNA を導入することが出来ることが分かりました。なるほど、細胞培養の経験があれば、何とかなりそうです。出来た HAC は異種の細胞にもトランスファーすることが可能で、しかも安定して細胞に維持されるので、ES 細胞に HAC を導入することでトランスジェニックマウスさえ出来てしまう。かなり可能性が広がります。

実験については、長谷川さんの綿密な計画のもとに、5 日間という限られた日程に関わらず、1) 目的の DNA 断片を持つ BAC に HAC 導入カセットを導入する、2) 細胞に維持されている HAC に Cre/lox 組換え系を用いて目的 DNA 断片を導入する、3) 構築された HAC の細胞間トランスファー、という HAC を扱うための一連の技術を学ぶことが出来ました。舩本研のポスドクさんたちの模範実験に続いて、実際に私も作業させてもらい、プロトコルを読むだけでは到底分からないであろう細かな操作のコツを習得させてもらいました。また、実験の合間には次々に浮かんでくる質問をその場で聞くことが出来たので、理解も深まりました。さらに今回の講習会では HAC の技術だけではなく、長大な DNA 断片のク



ローニングに有用な BAC の扱いも教えてもらい、大変勉強になりました。今回の講習会では研究班から 4 人が参加したのですが、実は私、実験結果では参加者で最も成績が良く栄えある総合優勝！を頂きました。（ピース）後日、私は三島の遺伝研に帰ってきてから早速共同研究を申し込みました。私の研究対象の哺乳動物のリボソーム RNA(rRNA) 遺伝子は、一細胞あたりに数百コピー存在して、タンデムリピートを形成しています。43kb の遺伝子のうち rRNA をコードするのは約 13Kb で、すなわち 30kb にわたって非コード DNA 領域が存在します。ここに rRNA 遺伝子の機能配列を見いだすために、HAC 上にクローニングして解析する予定です。

最後に、この講習会を開催するにあたり、ラボ全体で時間をかけて準備して下さった舩本研の皆様、この場を借りて感謝いたします。特に長谷川さんには大変な負担だったと思いますが、おかげでとても分かりやすくスムーズに学ぶことが出来ました。また学生さんがいつも車を出して滞在中の食事などをサポートして下さり、さらに泊まり込みで実験の準備をして下さっていたことも聞きました。一緒に学んだ 3 人の参加者の皆さんからも良い刺激を受けました。とても素晴らしい講習会だったので、参加出来てとても良かったです。本当にありがとうございました。



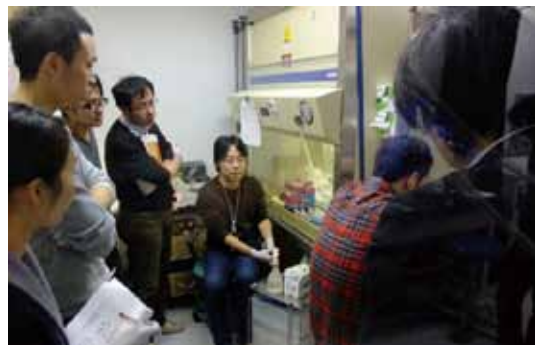
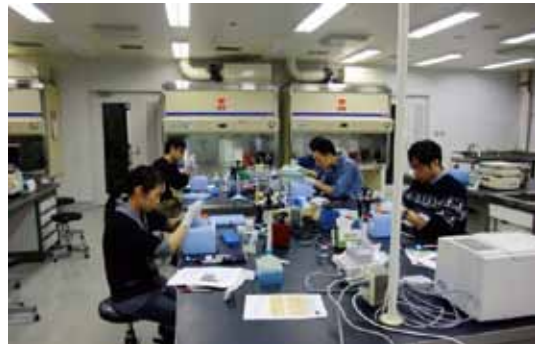
学会見聞録 2

「HAC (Human Artificial Chromosome) 講習会に参加して」

西淵 剛平

2012 年 2 月 27 日～3 月 2 日に千葉県木更津市にある、かずさ DNA 研究所にて舩本寛先生（細胞工学研究室）主催のヒト人工染色体 (HAC) 講習会が開催されました。本新学術領域における記念すべき第一回の技術講習会に参加しましたので、その内容について、学生という身分ながらこのような高度な技術講習会に参加させていただいた感想と合わせて、ご報告させていただきますと思います。

講習は 5 日間の日程で、HAC に関する講義や当日の実習内容の説明、そして実験と、時間の無駄が無いように計算されたスケジュールで実施されました。研究室の方々に事前に通り実習内容をデモして下さったそうで、ハプニングも無く、終始段取り良く進んでいたと思います。また、実習の空き時間には 30 分程度のプレゼン形式でお互いの研究を紹介する場が設けられました。初日の自己紹介ではみなさん HAC を利用してどのような研究を行おうと考えているか説明されており、



みなさんの研究内容を含め、興味深いお話を聞くことができました。ヒト人工染色体 (HAC) は、数 Mb 以上の巨大な DNA 断片や繰り返し配列を細胞内で安定に保持する為のベクターとして、また複雑で解析が困難なセントロメア形成のメカニズムを解析するツールとして、非常に有用性が高い実験材料であることはみなさんも良くご存知のことかと思えます。しかしながら、新規に自身の研究に導入するためには、技術面だけでなく実験材料の取得などの面でもハードルが高く、一から独学で系を立ち上げるのは大変難しいと思われる。実際、参加前まで私も一から人工染色体を作製するものだと思えていましたが、本講習では、そのような難易度の高い手法ではなく、すでに HAC が導入された培養細胞株を利用し、目的の DNA 断片の HAC への挿入方法や目的の細胞への HAC の導入方法について、効率よく形式化された、より現実的な手法を学びました。

実験は研究室横の体験学習などで使用されている実験室（写真 1）と舩本研内の培養室（写真 2）で行いました。実験自体は培養細胞や分子生物学の基本操作をした方であれば問題なくできる範囲であったと思います。しかし、導入効率をあげるためのコツや注意すべきポイントがところどころ存在し、直接見て、実際に手を動かすことができたことは実験技術を習得する上で非常に良かったと思います。今回の講習会では、HAC を使って自身

の研究に応用する必要最低限の知識や技術について理解することができましたが、時間の都合上 HAC が導入できているかを確認するための FISH 法については実習に組み込むことができなかったそうです。実習中に見せてくださった FISH のデータは大変きれいだったので、機会があればぜひまた教えて頂きたいと思っています。本講習会に参加を決めた当初は HAC について勉強できればいいかという軽い気持ちでした。しかし、HAC を利用した研究の長所・短所を学び、みなさんとディスカッションしていくうちに自身の研究に応用できるような実験のアイデアが浮かび、自分でも新たな系の立ち上げに挑戦してみたいという意欲が湧いてきました。実際に、HAC を使った研究ができるかどうかは分かりませんが、貴重な体験をさせていただき、自分の将来のためにもなったと考えています。今後このような技術講習会が開催されることが決定しているかは分かりませんが、個人的にはぜひ第 2 回、第 3 回と続けてほしいと思います。また、自分と同じような学生の方々には、次回があれば参加することをお勧めしたいと思います。

最後に、HAC 講習会を開いて下さった舩本寛先生、実習の指導や準備から毎日の食事や車の送迎までいただいた舩本研究室の方々には、講習会期間中大変お世話になりました。そして、一緒に講習会を受けた石合先生、赤松さん、黒澤さんには、貴重なお話をたくさん聞くことができました。この場を借りて皆様に深く感謝したいと思います。掲載した写真は舩本先生から頂戴いたしました、重ねて感謝を申し上げたいと思います。拙い文章ですが最後まで読んでいただきありがとうございました。



学会・シンポジウム

新学術領域

「ゲノムを支える非コード DNA 領域の機能」
第二回領域会議

平成 24 年 2 月 23 日（於 京都）

第二回領域会議が 2 月 23 日に京都にて開催されました。
本会議では各研究代表者が現在までの進捗状況、今後の予定などについて発表しました。また研究協力者である柳田充弘先生、篠原彰先生、荒木弘之先生にも参加していただき、領域の方向性などについて意見をいただきました。



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	7 月	第 3 回領域会議（担当：太田）
	8 月	技術講習会「ChIP-seq」（担当：加藤・山田・太田）
	8 月	高校生対象「生命科学への誘い」（担当：赤松・小林）
2013 年	2 月	第 4 回領域会議（担当：梶川）
	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）
2014 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）
2015 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）
	3 月	第 10 回領域会議（担当：小林）

（実施月は目安）

新学術研究領域「ゲノムを支える非コード領域の機能」
第二回領域会議 議事録

1. 領域代表挨拶（小林）
領域研究計画の概要説明
第 1 回領域会議の報告
2. 各研究班計画および進捗状況の発表
小林：rDNA の不安定性が染色体及び細胞機能に与える影響
太田：非コード DNA 領域によるゲノム DNA 再編制御機構
印南：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
中山：染色体維持におけるヘテロクロマチンの機能
菱田：非コード DNA 領域が果たす DNA 損傷ストレス耐性機構
梶川：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
加納：テロメア構成因子による染色体の統合的制御機構
舂本：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
高田：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
3. 研究協力の先生との意見交換

出席者（敬称略）

- 研究協力者
柳田 充弘（OIST）
篠原 彰（阪大蛋白研）
荒木 弘之（遺伝研）
- 学術調査官
大杉 美穂（東大医科研）
- 班員
小林 武彦（遺伝研）
太田 邦史（東大）
中山 潤一（理研神戸）
印南 秀樹（総研大）
加納 純子（阪大）
舂本 寛（かずさ DNA 研）
高田 穰（京大）
梶川 正樹（東工大）
菱田 卓（学習院大）

編集後記

新年度を迎え、様々な場所で新しい顔ぶれにであう。本新領域でも 2 年目を迎える今年度、15 名の公募研究代表者（今号で紹介）を迎え新たなスタートを切った。新たな体制のもと小林代表を中心に班員間での協力を密にし、未知領域の宝庫である非コード DNA 領域の機能解明を目指していきたい。本領域の班員によりなされるであろう様々な発見に接することができる喜びで今から心が躍る思いである。
今回初めてニュースレターの取りまとめを担当した。研究を通して多くの成果を出すことはもちろん重要であるが、それを社会に発信することも同様に重要なことであると実感した。今後、広報担当として研究成果の情報発信の一助となれるようニュースレターの発刊等にかかわっていきたい。小林代表をはじめとして班員の方々には多忙の中、ニュースレターの原稿執筆にご協力いただきこの場を借りて感謝の弁を述べたい。（MK）