

2021 年 6 月 1 日

Press Release

京都大学アイセムス（物質－細胞統合システム拠点）

理化学研究所

最も詳細な解像度で ゲノム DNA の 3 次元構造を導く技術

- ・ゲノム DNA の 3 次元構造を明らかにする技術の開発
- ・次世代ゲノムシーケンサーとスーパーコンピュータによる解析

谷口雄一 京都大学アイセムス（高等研究院 物質－細胞統合システム拠点）教授（兼・理化学研究所チームリーダー）、大野雅恵 特定講師（兼・理化学研究所客員研究員）、安藤格士 理化学研究所研究員（現・東京理科大学講師）、David G Priest 理化学研究所海外特別研究員（現・豪メルボルン大学研究員）らの研究グループは、細胞内のゲノム DNA の 3 次元構造を、ヌクレオソームのレベルで決定する技術の詳細な実験マニュアルを公開しました。

ヌクレオソームとは、細胞内の様々な遺伝子をコードしたゲノム DNA が、160～200 塩基対ごとにヒストンと呼ばれるタンパク質に巻きついて形成する、ゲノム DNA の構造単位です。従来の研究では遺伝子領域に関わらず規則的にヌクレオソームが並んでいると考えられてきましたが、2019 年に同研究グループは、遺伝子領域毎にヌクレオソームの配列構造が異なっていることを発見しました。発生や分化などの際に行われる様々な遺伝子の発現が、その構造を基に制御されていることを示唆するものであり、様々な生命プロセスの発現起源を知るための重要な基盤技術として、同グループの実験技術は世界的に大きく注目されています。

本プロトコルの公開は、生命科学者による多様な遺伝子発現現象のメカニズムの解析や、医学研究者による様々な疾病の発生原因の追跡など、分子レベルでの生命現象を扱う幅広い研究の高度化に貢献することが期待できます。

本成果は 2021 年 5 月 28 日に、国際学術誌「*Nature Protocols*」のオンライン版に掲載されました。

1. 背景

私達のからだは、細胞の中にあるゲノムから、状況に応じて適切な遺伝子を発現することで機能しています。ヒトの場合、ゲノムは 30 億塩基対の DNA から成り立ち、約 30,000 種類の遺伝子を発現します。ゲノムは 160～200 塩基対ごとに、ヒストンと呼ばれるタンパク質に約一周半巻き付いて「ヌクレオソーム」と呼ばれる構造をとり、それらが鎖状に数珠繋ぎとなった状態で細胞の核と呼ばれる器官の中に収納されています。遺伝子の発現は、この構造体に様々なタンパ

ク質が結合することで起こりますが、どのようにして状況に応じて適切な発現が起こるのかは明らかになっておらず、現代の生命科学の最大の謎の1つとされています。

この謎に挑むため、研究グループが最近開発したのが Hi-CO 法という技術です。Hi-CO 法を用いることで、ゲノムを構成するそれぞれのヌクレオソームの3次元的位置と向きを実験的に導くことができます。それぞれの遺伝子がどのような物理的な構造から生み出されているかが分かるため、遺伝子発現の発生原理に直接的に迫ることが可能になると考えられます。

研究グループは2019年に本技術を生命科学のトップ誌である Cell 誌にて発表し、世界的に大きな反響を得ました。同技術を用いて出芽酵母のゲノム DNA を解析した結果からは、これまでジグザグなどの形で一定の規則的な配置を取ると考えられてきたヌクレオソーム鎖の構造が、実は不規則となっており、それぞれの遺伝子ごとに異なる配置を取ることが発見されました。この結果は遺伝子発現の原理を考える上で、その構造が本質的な役割を果たすことを示唆するものであり、今後、様々な分化状態や疾病状態の生物・生体試料を解析していくことで、遺伝子による生命制御の本質的な仕組みの解明に大きく近づくものと期待できます。

しかし2019年の論文では実験法の概要のみを示しており、様々な研究者が Hi-CO 法を簡便に使えるようにするには、オリジナルの部分を多く含む実験プロセスの詳細を、細かい注意点や解析プログラムなども含める形で公に示す必要がありました。そこで今回、各実験プロセスの手順を詳細に記述した実験マニュアルを論文として公開しました。

2. 研究内容と成果

Hi-CO 法では、次世代ゲノムシーケンサー※1 による大規模な DNA 配列情報の実験的な取得と、スーパーコンピュータ※2 による物理計算とを組み合わせることで解析を行います（図1）。

前者のプロセスにおいては、まず解析対象となる細胞の中で、空間的に近い位置にあるヌクレオソーム上の DNA 同士の連結をそれぞれ行い、次に次世代ゲノムシーケンサーを用いて、連結が起こった DNA 領域の配列解読を網羅的に行います（図1左）。得られたデータから、ゲノムの各ヌクレオソームの間でどれだけの頻度の連結が起こったかを解析することで、各ヌクレオソームの間の距離関係を導くことができます。

そして後者のプロセスにおいては、コンピュータ内でヌクレオソーム鎖のモデルを構築し、物理的な性質を考慮しながら前者のプロセスで導いた距離関係を当てはめていくことで、各ヌクレオソームの3次元的配置を決定します。この決定には大量の計算が必要になることからスーパーコンピュータを用いており、最初に仮想的に温度を上げてヌクレオソームをランダムに散らばらせた後、温度を徐々に下げていくことで、一番もっともらしい構造を導いています（図1右）。

今回の論文では、2019年の論文で報告した出芽酵母だけでなく、ヒト等の他の生物種に応用する場合のポイントや実験・計算法の修正点などについて議論し、物理計算を行うためのプログラムやテストデータも公開しました。

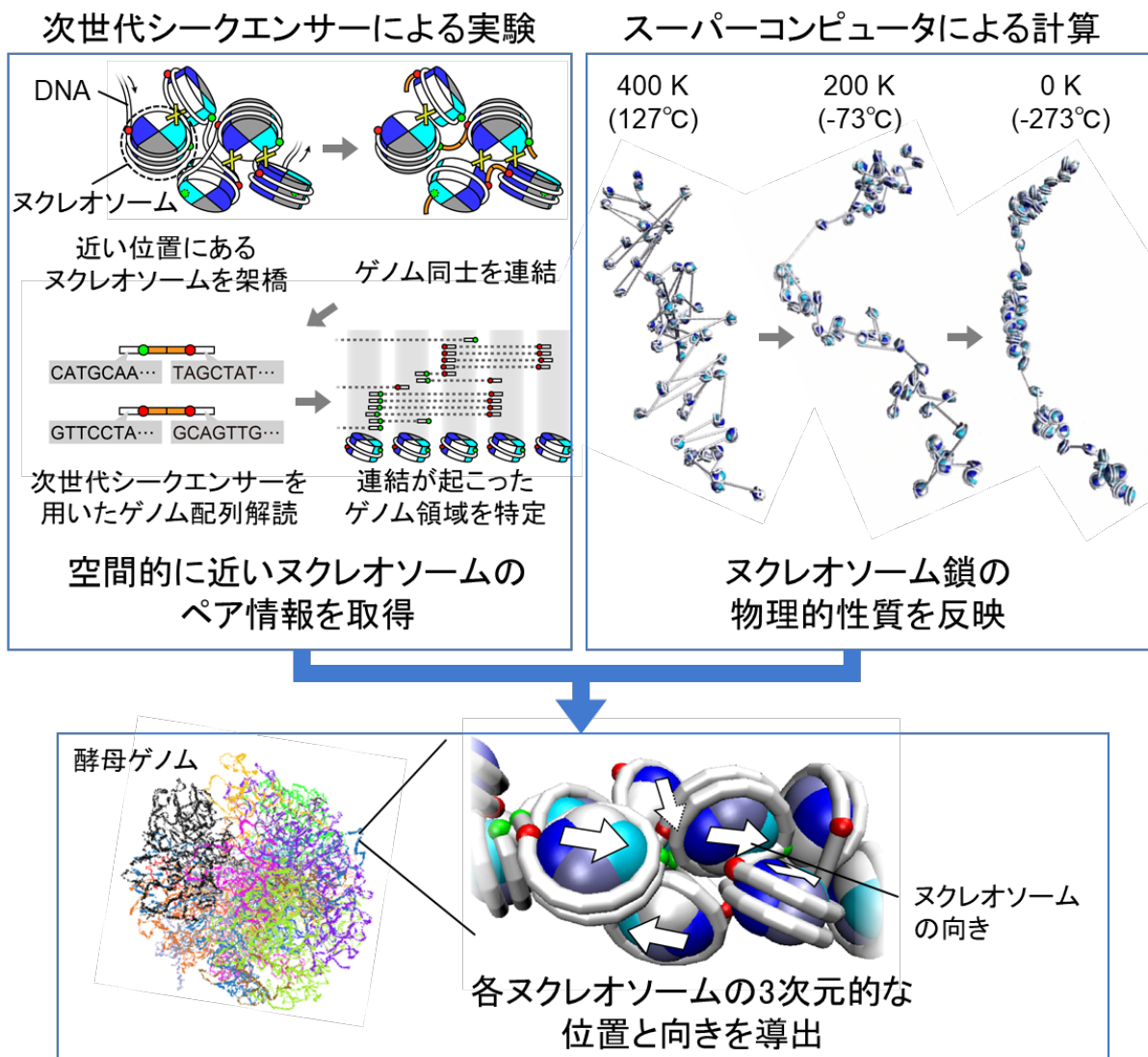


図 1. Hi-CO 法によるゲノムを構成する各ヌクレオソームの 3 次元的な配置構造の決定

3. 今後の展開

受精卵からの発生や、iPS 細胞の分化誘導、ウィルスへの免疫応答など、数多くの生命の働きや機能は、ゲノムからの適切な遺伝子発現を介して行われます。本技術によって遺伝子発現の源となる構造基盤が明らかになることで、生命が行う様々な機能発現の本質的な仕組みが明らかになるだけでなく、生命の働きを論理的に制御する方法論の開発にもつながっていくものと期待できます。

4. 用語解説

- ※1 **次世代ゲノムシーケンサー**: 数百万から数億に渡る数の、数百塩基対レベルの長さの DNA 断片の配列解読を一挙に行う技術。現在の様々な生物種のゲノムの決定は、この技術を用いて解読した DNA 配列をつなぎ合わせていくことで行われている。
- ※2 **スーパーコンピュータ**: 大規模で高度な計算能力を有するコンピュータ。一般的には膨大な数のノード (CPU とメモリをセットにしたもの) に計算を並列的に行わせることで、大規模かつ高速な計算を可能としている。

5. 研究プロジェクトについて

日本学術振興会 (JSPS): 基盤研究 A (ゲノム高次分子構造の生物物理学(20H00460))、挑戦的開拓 (1 分子スケール蛍光分析化学の創出)、学術変革領域研究 A (ヌクレオソーム動態のモダリティ (20H05936))

科学技術振興機構 (JST): さきがけ (1 細胞内多階層オミックス動態の連関性(JPMJPR15F7))

理化学研究所: 理研エピゲノム操作プロジェクト、理研 BDR 構造細胞生物学プロジェクト、奨励研究

アステラス財団: 研究助成金

武田科学振興財団: ライフサイエンス研究助成

持田記念医学薬学振興財団: 研究助成金

サントリー生命科学財団: SunRiSE プログラム

6. 論文タイトル・著者

Hi-CO: 3D genome structure analysis with nucleosome resolution

(参考訳: Hi-CO 法: ヌクレオソーム分解能をもつ 3 次元ゲノム構造解析法)

著者: Masae Ohno, Tadashi Ando, David G Priest and Yuichi Taniguchi

Nature Protocols | DOI: 10.1038/s41596-021-00543-z