

News Release



令和3年4月15日

各報道機関文教担当記者 殿

DNA がシャクトリムシダンス？ 遺伝子が核に収納される第一歩の可視化に世界で初めて成功！

金沢大学大学院新学術創成研究科ナノ生命科学専攻博士前期課程 2 年／ナノ精密医学・理工学卓越大学院プログラム履修者の西出梧朗，ナノ生命科学研究所のキイシャーン・リン特任助教，ナノ生命科学研究所／新学術創成研究機構のリチャード・ウォング教授らの共同研究グループは，高速原子間力顕微鏡（HS-AFM）（※1）により，ヒストンタンパク質（※2）の一種ヒストン H2A が DNA により包まれる過程を，ナノスケールかつリアルタイムで可視化することに世界で初めて成功しました。

ヒストン H2A は，ヌクレオソーム（※3）を形成する 4 種類のヒストンタンパク質の一つで，核内で遺伝情報であるゲノム DNA を凝集させるために重要なはたらきをしています。ヒストン H2A は，アセチル化やメチル化などのヒストン修飾（※4）を受け，DNA の凝集を緩めたり，締めたりすることで，さまざまな遺伝子発現制御に関わっていることが知られています。この働きは膨大な遺伝情報を保持するために重要ですが，ヒストンタンパク質が DNA を包み込むプロセスの詳細についてリアルタイムで実際に観察した例はこれまでにありませんでした。

本研究では，HS-AFM を用いて，ヒストン H2A のドメイン構造である球状コアと構造を取らない無秩序なテイルを観察しました。さらに，ヒストン H2A と DNA の相互作用を観察したところ，DNA がシャクトリムシ様の動きをしてヒストンに巻き付く様子を捉えることに成功しました。また，HS-AFM による DNA-H2A 凝集体の観察を行い，DNA と H2A の間には塩濃度を操作することによって可逆的に変化する液-液相分離（LLPS）（※5）環境が形成されていることを見いだしました。これらの研究成果により，HS-AFM は，遺伝子発現のオン・オフに関わる重要な DNA-ヒストン結合を制御する因子を見いだすのに適切なツールであることが示されました。加えて，ナノスケールで迅速かつ自発的な LLPS 形成を捕捉できることから，タンパク質およびタンパク質-核酸の凝集研究をも実行可能なツールであることが明らかになりました。将来的にはヌクレオソームおよびクロマチン形成過程も，HS-AFM を用いた視覚化が可能になると期待されます。

本研究成果は，2021 年 4 月 14 日（米国東海岸標準時間）に米国科学誌『*The Journal of Physical Chemistry Letters*』のオンライン版に掲載されました。

【研究の背景】

真核細胞は、DNA の凝縮により、膨大な量の遺伝子情報を 1 つの区画である核の中に効率的に保存しています。ゲノム DNA はヒストン八量体を包み込んでヌクレオソームを形成し、その後 DNA をさらに凝縮させクロマチンを形成しています。これまでに、核内の核膜周縁、特に核と細胞質間の物質輸送を担う核膜の穴＝核膜孔の下にクロマチンが凝集している様子が報告されています。クロマチンを形成する各ヌクレオソームは、ヒストン八量体タンパク質をディスクとするその周りに、50 nm の DNA (147 bp) が約 1.7 周した形をしています。細胞内では、ヒストン H2A, H2B, H3, および H4 のそれぞれ 2 つのコピーが、正しい順序で DNA に結合するように調節されています。ヌクレオソームは動的であり、部分的に DNA の凝縮を緩めることでヒストンタンパク質が自発的に移動し、遺伝子の発現制御にかかわっています。同様に、ヒストン八量体の組成も自由に変わっており、ヒストン八量体内のヒストンの種類の変化は、さまざまな生物学的プロセスを調整していることが明らかとなっています。このように、ヒストンの種類と、DNA との相互作用は生理学的に重要です。しかし、これまで適したツールが存在しなかったために、DNA がどのような動きをしてヒストンに巻き付き、さらに離れているのかについて、ナノスケールかつリアルタイムで観察できた例はありませんでした。ヒストン修飾による遺伝子発現調節、さまざまな病気や薬剤耐性病変に関係していることが報告される DNA 修復などについて理解を深めるためには、ヒストンを包む DNA のナノ分子動態をよりよく理解することが重要です。

【研究成果の概要】

本研究では、HS-AFM を用いて、ヒストン H2A のドメイン構造である球状コアと構造を取らない無秩序なテイルを観察しました。さらに、ヒストン H2A と DNA の相互作用を観察し、DNA がシャクトリムシ様の動きをしてヒストンに巻き付く様子を捉えることに成功しました (図 1)。また、HS-AFM による DNA-H2A 凝集体の観察では、DNA と H2A の間には塩濃度を操作することによって可逆的に変化する液-液相分離 (LLPS) 環境が形成されていることを見いだしました (図 2)。

これらの研究成果により、HS-AFM は、遺伝子発現のオン・オフに関わる重要な DNA-ヒストン結合を制御する因子を見いだすのに適切なツールであることが示されました。加えて、ナノスケールで迅速かつ自発的な LLPS 形成を捕捉できることから、タンパク質およびタンパク質-核酸の凝集を研究することも実行可能にするツールであることが明らかになりました。

【今後の展開】

本研究成果により、将来的には 4 種のヒストンタンパク質によるヌクレオソームおよびクロマチン形成過程も、HS-AFM を用いた視覚化が可能になると期待されます。また、今後、本研究により明らかとなった DNA シャクトリムシ様ダイナミクスは、遺伝子発現に重要なクロマチンの核内時空間ダイナミクスの解明に必要な情報となり得ると考えられます。

本研究は、文部科学省世界トップレベル研究拠点プログラム (WPI), 文部科学省科学研究費補助金 (17H05874), 日本学術振興会科学研究費助成事業 (19K23841, 20K16262, 17K08655), 小林国際奨学財団, 島津科学技術振興財団, 金沢大学新学術創成研究機構ユニット研究推進経費, 金沢大学超然プロジェクト, 金沢大学「新型コロナウイルス感染症対策支援ファンド」研究費の支援を受けて実施されました。

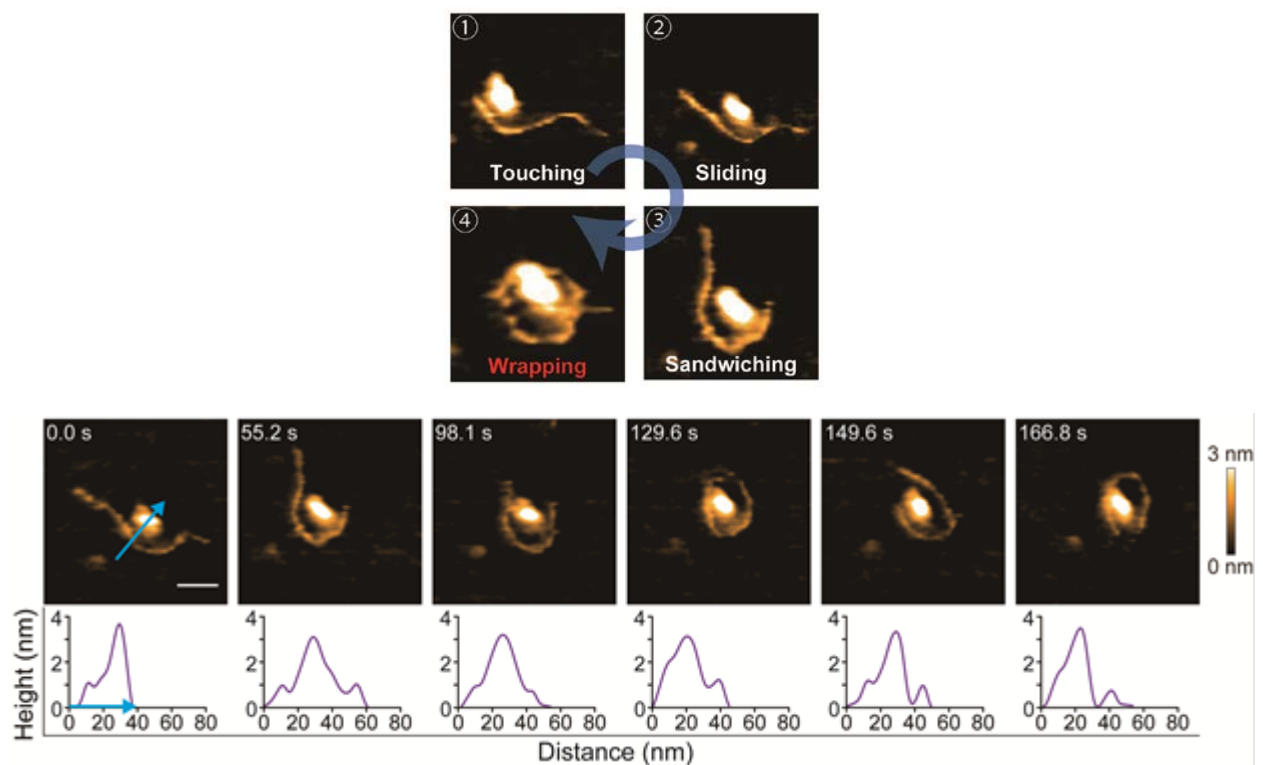


図 1. ヒストン H2A が DNA のシャクトリムシ様ダイナミクスによって包み込まれる一連のプロセスを, 世界で初めて直接観察することに成功した。拡大画像シーケンスは DNA シャクトリムシ様ダイナミクスによってヒストン H2A が DNA に包み込まれる様子を示す。

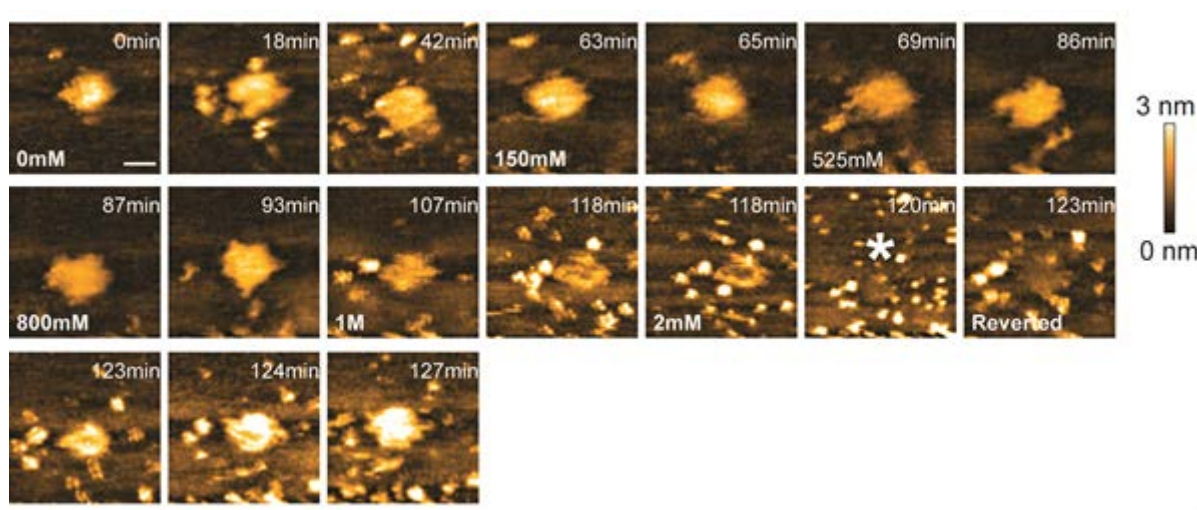


図 2. HS-AFM による DNA-H2A 凝集体の観察では, DNA と H2A 間の塩濃度を操作することによって可逆的に変化する液-液相分離 (LLPS) 環境が形成されていることが明らかとなった。拡大画像シーケンスは, 塩濃度を上昇させると DNA-H2A 凝集体が拡散し, その後塩濃度を減少させると DNA-H2A 凝集体が再び現れることを示している。

【掲載論文】

雑誌名 : The Journal of Physical Chemistry Letters

論文名 : High-Speed Atomic Force Microscopy Reveals Spatiotemporal Dynamics of Histone Protein H2A Involvement by DNA Inchworming

(高速 AFM を用いた DNA インチワームによるヒストン H2A ラッピングの時空間ダイナミクスの解明)

著者名 : Goro Nishide¹, Keesiang Lim², Mahmoud Shaaban Mohamed³, Akiko Kobayashi^{2,4}, Masaharu Hazawa^{2,4}, Takahiro Watanabe-Nakayama², Noriyuki Kodera², Toshio Ando², Richard W. Wong^{2,4}

(西出梧朗¹, キイシヤン・リン², マホモド・シャーバノ・モハンメド^{2,3}, 小林亜紀子^{2,3}, 羽澤勝治^{2,3}, 中山隆宏², 古寺哲幸², 安藤敏夫², リチャード・ウォング^{1,2,3})

1. 金沢大学大学院新学術創成研究科ナノ生命科学専攻博士前期課程, ナノ精密医学・理工学卓越大学院プログラム
2. 金沢大学ナノ生命科学研究所
3. 金沢大学新学術創成研究機構 (研究当時)
4. 金沢大学新学術創成研究機構

掲載日時 : 2021 年 4 月 14 日 (米国東海岸標準時間) にオンライン版に掲載

【用語解説】

※1 高速原子間力顕微鏡 (HS-AFM)

探針と試料の間に働く原子間力を基に分子の形状をナノメートル (10^{-9} m) 程度の高い空間分解能で可視化する顕微鏡。高速 AFM は溶液中で動いているタンパク質などの生体分子をナノメートルの空間分解能とサブ秒という時間分解能で観察することが可能である。

※2 ヒストンタンパク質 (ヒストン)

ヌクレオソームを構成する塩基性のタンパク質。ヌクレオソームには4種類のヒストン (H2A, H2B, H3, H4) が各二分子ずつ含まれる。

※3 ヌクレオソーム

真核生物に共通するクロマチンの最小構成単位。ヒストン H2A-H2B 二量体 2 つと H3-H4 二量体 2 つからなる複合体に約 147bp の DNA が巻き付いた安定した構造体。

※4 ヒストン修飾

ヒストンの N 末端領域 (テール) に見られるアセチル化, メチル化, リン酸化, ユビキチン化などの化学修飾。クロマチンの高次構造を変化させ, 転写を制御し, 発生, 分化, 細胞運命の維持において重要な役割を担っている。

※5 液-液相分離 (LLPS)

二つの液体が混ざらずに互いに排除しあい, 二相に分離する状態。細胞内にはタンパク質や核酸が局所的に凝集した液滴が多数存在し, これらは液-液相分離 (LLPS) 環境にある。

【本件に関するお問い合わせ先】

■研究内容に関すること

金沢大学ナノ生命科学研究所／新学術創成研究機構 教授

リチャード・ウォング (Richard Wong)

TEL : 076-264-6250

E-mail : rwong@staff.kanazawa-u.ac.jp

■ 広報担当

金沢大学ナノ生命科学研究所事務室

米田 洋恵 (よねだ ひろえ)

TEL : 076-234-4556

E-mail : nanolsi-office@adm.kanazawa-u.ac.jp