

# News Release



令和5年 2月 24日

各報道機関文教担当記者 殿

## 遺伝子発現制御に重要なヒストンを含むヌクレオソームが 1秒以内にDNA上をスライディングする現象を発見！

金沢大学大学院自然科学研究科数物科学専攻博士前期課程の森岡新さん、金沢大学ナノ生命科学研究所／新学術創成研究機構の柴田幹大教授らの研究チームは、東京大学定量生命科学研究所の胡桃坂仁志教授らの研究グループおよび京都大学大学院工学研究科／金沢大学ナノ生命科学研究所の生越友樹教授らの研究グループとの共同研究で、**遺伝子発現制御に重要なヒストンタンパク質 H2A.Z を含むヌクレオソーム（※1）が、わずか0.3秒の時間スケールでDNAに沿って移動する「ヌクレオソームスライディング」の様子を高速原子間力顕微鏡（高速AFM）（※2）を用いて世界で初めて撮影することに成功しました。**

真核生物では、ヒストンバリエント（※3）などのエピゲノム（※4）が、生命の本質ともいえる遺伝子発現の制御に重要な役割を担っています。ヒストンバリエントの一種であるH2A.Zは、遺伝子の転写活性領域と抑制領域の両方に高度に集積すること、また、その遺伝子欠損マウスが、ほとんどが生存できないという実験事実から、生体内で非常に重要な役割をもつことが知られています。しかしながら、H2A.Zが遺伝子発現の制御に活性（プラス）にも抑制（マイナス）にもはたらく、その分子メカニズムはほとんど分かっていませんでした。そこで本研究では、精製したH2A.ZとDNAをもとに、H2A.Zを含むヌクレオソームを試験管内で再構成し、その1秒以下のナノ動態を高速AFMを用いて直接可視化することを試みました。その結果、H2A.Zを含むヌクレオソームが、自発的に0.3秒以内の時間スケールでDNAに沿って移動すること（ヌクレオソームスライディング）を発見しました。さらに、H2A.Zのアミノ酸残基を主要型であるH2Aのアミノ酸残基へ入れ替えた変異体を解析することにより、H2A.ZのN末端に位置するアミノ酸残基がこのヌクレオソームスライディングに関与していることを明らかにしました。

今回の研究では、ヌクレオソームのダイナミクス観察という観点において、エピゲノムによる遺伝子発現制御の分子メカニズムの一端を明らかにしました。**この高速AFMによるヌクレオソームのナノ動態観察は、今後、遺伝子発現制御の分子メカニズムに対して新しい知見を提供することが期待されます。**

本研究成果は、2023年2月13日（米国東部時間）に国際学術誌『Nano Letters』にオンライン掲載されました。

## 【研究の背景】

私たちの体内のゲノム DNA は、細胞の核内でさまざまなタンパク質と複合体を形成することで高次に折りたたまれ、ヌクレオソームを基本単位としたクロマチン構造を形成しています。ヌクレオソームは、4種類のヒストンタンパク質（H2A, H2B, H3, H4）が各2分子ずつ集まった円盤状のヒストン八量体と、その周りに DNA が巻き付いた安定な構造をしています（図 1）。ところが、ゲノム DNA は非常にコンパクトに収納されている一方で、遺伝情報を読み取る際には、ヌクレオソームスライディングや DNA のアンラッピングのような読み取り部分の露出が必須で、生命活動の維持には、ヌクレオソームはダイナミックな構造変化を起こしているものと考えられています。また、ヒストンタンパク質には主要型ヒストンと亜種（ヒストンバリエント）が存在し、細胞周期とは無関係に、ヒストンバリエントが主要型ヒストンと置き換わるようにヌクレオソームに取り込まれることにより、さまざまな遺伝子発現の制御が達成されています。特に、H2A のヒストンバリエントである H2A.Z は転写の活性と抑制の両方に関与すること、熱安定性が低いこと、同じ DNA 配列上でも複数のヌクレオソーム構造を形成することが知られており、この不安定な構造は、その機能と密接な関係があるものと考えられましたが、これまで、生理的条件下（室温、非結晶状態、液中）での1分子レベルのダイナミクスは明らかにされていませんでした。

## 【研究成果の概要】

本研究チームは、H2A.Z を含むヌクレオソームに高速 AFM を適用することで、0.3 秒以下で起こる新たなヌクレオソームダイナミクスを発見しました。

高速 AFM は、生理環境（室温、非結晶状態、液中）にある生体分子の生きた動きそのものを高い時空間分解能（1 ナノメートル、0.3 秒以下）で可視化できる顕微鏡技術であり、これまでも本研究チームにより、さまざまなタンパク質のはたらく姿が映像として発表されています。研究チームはまず、ヌクレオソームの構造や動態を乱さない高速 AFM 基板の最適化に取り組みました。一般に、高速 AFM 観察には、基板とよばれる原子レベルで平坦な台の上に生体分子を固定する必要があります。しかしながら、これまでに使われていた基板でヌクレオソームの高速 AFM 観察を行うと、固定する力が強すぎるためか、ヌクレオソームに本来巻き付いているはずの DNA が剥がれ落ち、基板側へ強く固定される様子が多く観察されました（図 2 左）。そこで我々は、弱い正電荷を有し、AFM 基板上で単分子層を形成する特徴をもつピラー[5]アレーン（※5）に着目し、高速 AFM 基板に適用しました。その結果、本来のヌクレオソーム構造を壊すことなく、その構造と動態を観察できることを見い出しました。（図 2 右）。

このピラー[5]アレーン基板を用い、H2A.Z を含むヌクレオソームの高速 AFM 観察を行ったところ、ヒストン八量体で構成される円盤部分が DNA に沿ってコロコロとスライディングする様子を撮影することに成功しました（図 3）。その移動距離は、約 4 ナノメートルであり、高速 AFM の時間分解能である 1 フレーム 0.3 秒で完結する動きでした。また、コントロール実験として、主要型 H2A を含むヌクレオソームの観察を行ったところ、スライディング現象はほとんど見られなかったことから、この現象は、H2A.Z に特徴的である

ことが分かりました。さらに、研究チームは、このヌクレオソームスライディングが起こる構造的要因を調べるために、H2A.Z の 1-63 残基（N 末端側）と 64-127 残基（C 末端側）を主要型 H2A の 1-60 残基と 61-129 残基にそれぞれ置換した変異体を作成し、高速 AFM 観察を行いました。その結果、H2A.Z の 1-63 残基を主要型へ置換したヌクレオソームではスライディングは観察されず、64-127 残基を置換したヌクレオソームでは同様にスライディングが観察されました。これらの結果は、H2A.Z の N 末端部分にあるアミノ酸残基と DNA との相互作用の欠損が、DNA との相互作用を弱くし、H2A.Z を含むヌクレオソームにおいてスライディング現象を起こしたものと考えられます。H2A.Z を含むヌクレオソームにおける顕著なスライディング現象は、安定したヌクレオソームを形成するモデル DNA 配列で再構成したヌクレオソームだけでなく、生体内に存在する遺伝子発現調節領域の DNA 配列を用いた場合においても観察され、DNA 配列に依存しない現象であることも確かめられました。

このように、高速 AFM を用いて、H2A.Z を含むヌクレオソームのヒストン八量体が 0.3 秒の時間スケールで DNA に沿ってスライディングする現象を発見することができました。この現象は、H2A.Z を含むヌクレオソームが、遺伝子の転写を制御する機能と関係している可能性があります。例えば、ヌクレオソームスライディングによりヒストン八量体から露出された DNA 配列は転写因子がアクセスしやすくなり（活性）、一方、スライディングによりヒストン八量体へ巻き付いた DNA 配列はアクセスしにくくなる（抑制）、といった分子メカニズムが考えられます。

### 【今後の展開】

ヒストンバリエーションやヒストンの翻訳後修飾を含むエピゲノムは、遺伝子発現制御に極めて重要な役割を担っています。本研究では、ヌクレオソームのダイナミクス観察という観点で、エピゲノムにおける遺伝子発現制御の分子メカニズムの一端を明らかにしました。この高速 AFM によるヌクレオソームの動態観察は、今後、遺伝子発現制御の分子メカニズムに対して新しい知見を提供するものと期待されます。特に、ヌクレオソームが複数連なった、より生体内に近いクロマチン構造での観察により、遺伝子発現制御のナノレベルでの詳細な分子メカニズムの解明を目指します。

本研究は、文部科学省の世界トップレベル研究拠点プログラム（WPI）、日本学術振興会科学研究費助成事業（基盤研究(B), 21H01771）、新学術領域「遺伝子制御の基盤となるクロマチンポテンシャル」（JP21H00247 [代表：柴田幹大], JP18H05534 [代表：胡桃坂仁志]）国立研究開発法人日本医療研究開発機構（AMED）の創薬等ライフサイエンス研究支援基盤事業（BINDS）「エピジェネティクスの基盤原理解明と創薬のためのヒストンおよび再構成クロマチンの生産」（代表：胡桃坂仁志, JP22ama121009）および国立研究開発法人科学技術振興機構（JST）の戦略的創造研究推進事業（ERATO）「胡桃坂クロマチンアトラスプロジェクト」（研究総括：胡桃坂仁志, JPMJER1901）の支援を受けて行われました。

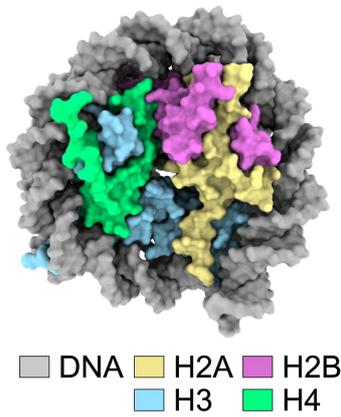


図 1 : ヌクレオソーム構造

ヌクレオソームはヒストン H2A-H2B 二量体 2 つと H3-H4 二量体 2 つからなるヒストン八量体に DNA が巻き付いた複合体です。

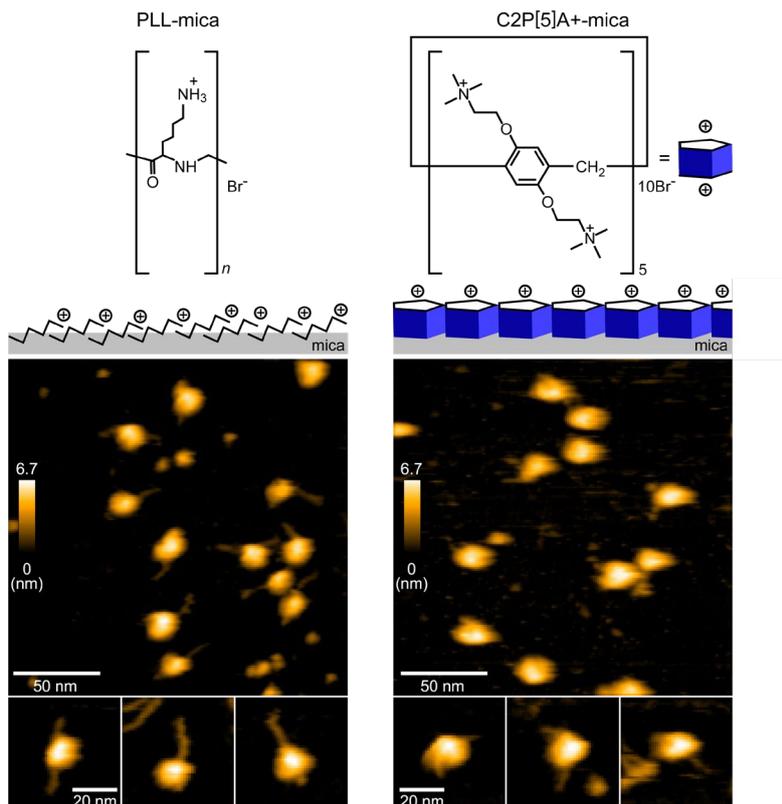


図 2 : 従来の AFM 基板 (PLL, 左図) と今回用いた AFM 基板 (C2P[5]A<sup>+</sup>, 右図) の比較

従来用いられていた AFM 基板を使ってヌクレオソームの観察をしたところ、DNA が基板に強く結合し、DNA がヌクレオソームから剥がれた構造が観察されました。一方、ピラー[5]アレーンを AFM 基板に用いた場合、DNA が剥がれた様子は観察されませんでした。

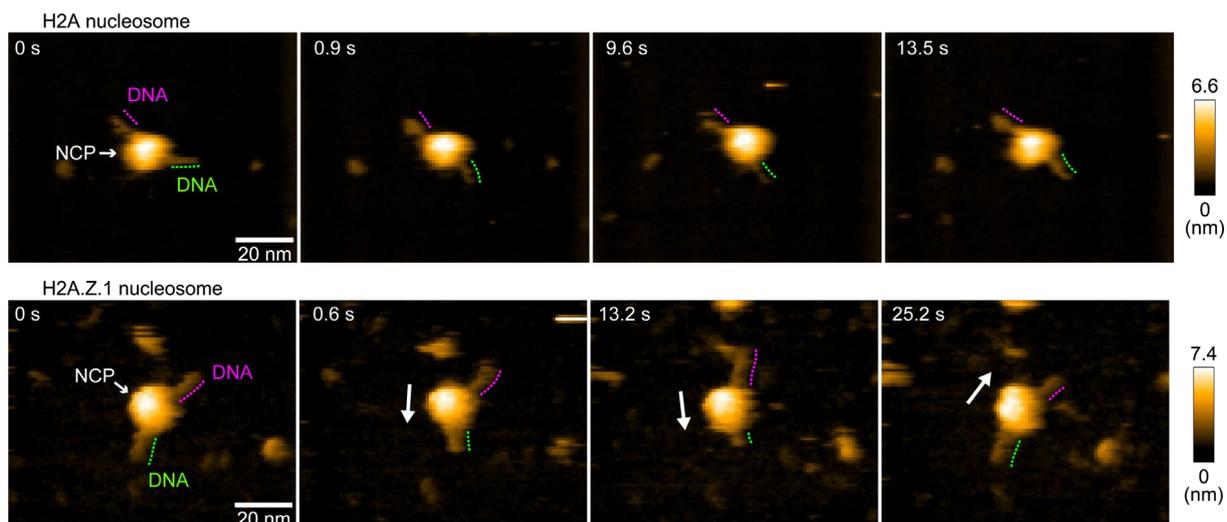


図 3：高速 AFM で観察したヌクレオソームスライディング

(上図) 主要型 H2A を含むヌクレオソームの連続した高速 AFM 画像。(下図) H2A.Z を含むヌクレオソームの連続した高速 AFM 画像。1 フレーム 0.3 秒で撮影。高速 AFM の映像から、H2A.Z ヌクレオソームの球状 (ヒストン八量体) の部分が、ひも状に見える DNA 上に沿って自発的にスライディングをすることが明らかとなりました。原著論文では、このスライディング現象を動画で見ることができます。

### 【掲載論文】

雑誌名： *Nano Letters*

論文名： High-Speed Atomic Force Microscopy Reveals Spontaneous Nucleosome Sliding of H2A.Z at the Subsecond Time Scale

(高速原子間力顕微鏡により明らかとなった H2A.Z の 1 秒以下のヌクレオソームスライディング現象)

著者名： Shin Morioka, Shoko Sato, Naoki Horikoshi, Tomoya Kujirai, Takuya Tomita, Yudai Baba, Takahiro Kakuta, Tomoki Ogoshi, Leonardo Puppulin, Ayumi Sumino, Kenichi Umeda, Noriyuki Kodera, Hitoshi Kurumizaka, Mikihiro Shibata

(森岡新, 佐藤祥子, 堀越直樹, 鯨井智也, 富田卓也, 馬場雄大, 角田貴洋, 生越友樹, レオナルド・プップリン, 角野歩, 梅田健一, 古寺哲幸, 胡桃坂仁志, 柴田幹大)

掲載日時： 2023 年 2 月 13 日 (米国東部時間) に国際学術誌『*Nano Letters*』にオンライン版に掲載

DOI： 10.1021/acs.nanolett.2c04346

<https://doi.org/10.1021/acs.nanolett.2c04346>

## 【用語解説】

### ※1：ヌクレオソーム

クロマチン（染色体）の基本構成単位で、H2A, H2B, H3, H4 の4種類がそれぞれ2分子ずつ、計8個のヒストンタンパク質が結合し、その周囲にDNAが巻きついたものを指す。ヒストンが「糸巻き」のような役割を持つことによって、非常に長い鎖状のDNAが、クロマチンの内部にコンパクトに収納される。

### ※2：高速原子間力顕微鏡（高速AFM）

試料の表面をナノメートルの直径をもつ探針でなぞることで、試料の表面形状を可視化する顕微鏡。溶液中にある生体分子を、ナノメートルの空間分解能と高い時間分解能（最速33フレーム/秒）でスキャンすることにより、試料の構造と動きの両方を可視化することができる。

### ※3：ヒストンバリエーション

主要型ヒストンとアミノ酸配列の異なる、ヒストンの亜種。主要型ヒストンに代わりヌクレオソームに取り込まれることでクロマチン構造が変化し、それにより転写やDNAの複製・修復などの機能が制御される。

### ※4：エピゲノム

DNAの塩基配列を変えずに、遺伝子のはたらきを決める仕組み。ゲノムDNA中の遺伝子がRNAに転写される度合いを制御する。

### ※5：ピラーアレーン

正多角柱の管状分子。特に、ピラー[5]アレーンは、正五角柱の環状分子で、マイカ表面に単分子層を形成する。

---

## 【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

柴田 幹大（しばた みきひろ）

TEL：076-264-5927

E-mail：msshibata@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）

西村 公恵（にしむら きみえ）

TEL：076-234-4555

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