

News Release



令和6年4月24日

各報道機関文教担当記者 殿

ヒストンテールのないヌクレオソームのナノダイナミクス を可視化することに成功！

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（研究当時）、金沢大学ナノ生命科学研究所（WPI-NanoLSI）／新学術創成研究機構の柴田幹大教授らの研究グループは、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との共同研究で、**遺伝子発現制御に重要なヒストンテールを除去したヌクレオソーム（※1）が、わずか0.3秒以内の時間スケールで「ヌクレオソームスライディング」や「DNA アンラッピング・ラッピング」を頻度よく起こすことを高速原子間力顕微鏡（高速AFM）（※2）を用いて世界で初めて明らかにしました。**

各ヒストンタンパク質（H2A, H2B, H3, H4）の末端には、それぞれ長さの異なるひも状構造（ヒストンテール（※3））があります。このヒストンテールの化学的な変化（翻訳後修飾（※4））は、生命の本質とも言える遺伝子発現制御に重要であると考えられていますが、ヒストンテール自体がヌクレオソーム構造にどのような影響を与えるのかは不明でした。そこで本研究では、全てのヒストンテールや、各ヒストンタンパク質のテールを除去したヌクレオソームをそれぞれ作製し、高速AFMを用いてナノメートルスケールでの動態観察を行いました。その結果、0.3秒以内で起こる自発的なヌクレオソームスライディング（ヒストン八量体がDNAに沿って移動する現象）やDNAアンラッピング現象の動画撮影に成功しました。特に、H2BとH3のヒストンテールの除去がヌクレオソームのナノダイナミクスに大きく関与していることを明らかにしました。

高速AFM観察により、ヒストンテールそれ自体がヌクレオソームの動的な構造変化に深く関わっていることを明らかにしました。**本研究結果は、今後、エピジェネティックな遺伝子発現制御の分子メカニズム解明へ向け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、2024年4月11日（米国東部時間）に国際学術誌『Nano Letters』のオンライン版に掲載されました。

【研究の背景】

私たち人間を含む哺乳類細胞のゲノム DNA は、細胞の核内において、さまざまなタンパク質と複合体を形成することでコンパクトに折り畳まれ、ヌクレオソームを基本単位とするクロマチン構造を形成しています。ヌクレオソームは、ヒストン八量体（4 種類のヒストンタンパク質 [H2A, H2B, H3, H4] が各 2 分子ずつ集合した円盤状の構造）と、DNA が巻き付いた構造をとり（図 1）、それぞれのヒストンタンパク質の N 末端と C 末端には、ヒストンテールと呼ばれる柔軟なひも状の構造が存在します。また、生命活動の維持に必要な遺伝情報の読み取りの際には、ヌクレオソームはダイナミックに構造を変化し、読み取り部分の DNA 配列が露出されると考えられています。

これまでの研究から、ヒストンテールとその翻訳後修飾が遺伝子発現にとって非常に重要であることは分かっていました。例えば、ヒストンテールを欠損させたヌクレオソームは、染色体凝集ができず、安定性が低下することや、H2B と H3 のヒストンテールのアセチル化はヌクレオソームの運動性を促進することから、生体内で遺伝子発現の活性や抑制に非常に重要な役割を持つことが知られていました。しかしながら、生理的条件下（室温、非結晶状態、液中）で、ヒストンテール自体がヌクレオソームのナノメートルスケールのダイナミクスにどのような影響を与えるかは明らかにされていませんでした。

【研究成果の概要】

本研究グループは、人為的にヒストンテールを除去したヌクレオソームに高速 AFM 観察を適用し、わずか 0.3 秒以下で起こるヌクレオソームダイナミクスを可視化することに成功しました。

高速 AFM は、生理的条件下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）で可視化できる走査型顕微鏡の一つです。これまでも本研究グループにより、さまざまなタンパク質のはたらく姿が活写されています。本研究では、最初に、全てのヒストンテールを除去した all テールレスヌクレオソームの高速 AFM 観察を行いました。その結果、ヒストン八量体が DNA に沿ってコロコロと移動する様子（ヌクレオソームスライディング）を頻度よく撮影することに成功しました（図 2）。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。さらに、研究グループは、それぞれのヒストンタンパク質のテールを除去した 4 種類のヌクレオソーム（tH2A:H2A テール除去（以下同様）、tH2B, tH3, tH4 ヌクレオソーム）にも高速 AFM 観察を適用し、tH2B, tH3 ヌクレオソームにおいて、ヌクレオソームスライディングや DNA ラッピング・アンラッピングが高頻度に起こることを発見しました。H2B と H3 の N 末端のヒストンテールは、他のヒストンタンパク質のテールよりも長く、また、ヒストン八量体に巻かれる DNA の入口・出口付近に位置します。このことから、H2B や H3 のテールの除去により、ヒストン八量体と DNA との相互作用が弱まり、ヌクレオソーム構造が不安定になったため、ヌクレオソームスライディングや DNA アンラッピングが頻度よく起こるようになったと考えられます。つまり、H2B と H3 のヒストンテールは、ヌクレオソームのナノダイナミクスに関わっていることが強く示唆されました。生体内には、ヒストンテールを分解する酵素が存在し、ヒストンテールの切

断が多くの生物学的プロセスを調節することが報告されています。高速 AFM で観察された、テール除去によるヌクレオソームダイナミクスの増加は、遺伝子発現制御を担う物理的な分子メカニズムの一つなのかもしれません。

【今後の展開】

ヒストンテールの翻訳後修飾を含むエピゲノムは、遺伝子発現制御において極めて重要な役割を担っています。本研究では、ヒストンテールによるヌクレオソームのナノダイナミクス観察という観点から、遺伝子発現制御を担う分子メカニズムの一端に迫りました。将来的には、ヒストンテールの動き自体を可視化できる技術を開発し、翻訳後修飾によるヒストンテールのナノダイナミクスや、クロマチン結合タンパク質との結合解離ダイナミクスを高速 AFM で直接可視化することで、エピジェネティックな遺伝子発現制御メカニズムの理解に大きく貢献できると考えています。

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])、日本医療研究開発機構 (AMED) の生命科学・創薬研究支援基盤事業 (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, JP23ama121009) および科学技術振興機構 (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。

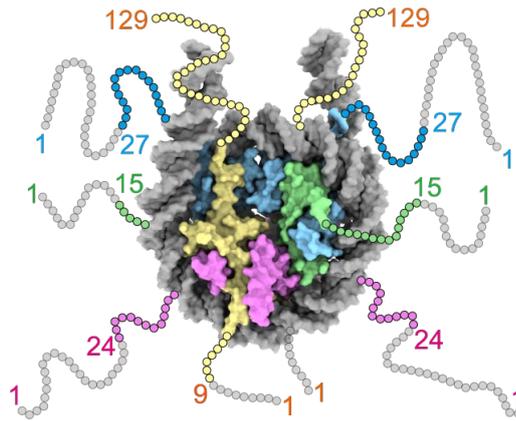


図 1：ヌクレオソーム構造

ヌクレオソームは、ヒストン H2A-H2B 二量体二つと H3-H4 二量体二つからなるヒストン八量体に DNA が巻き付いた複合体であり、各ヒストンの末端にはヒストンテールと呼ばれる柔軟な領域がある。本研究で用いたヒストンテール欠損変異体のアミノ酸位置を、灰色の丸で示す。H2A：黄色, H2B：マゼンタ, H3：シアン, H4：緑色, DNA は灰色で示す。

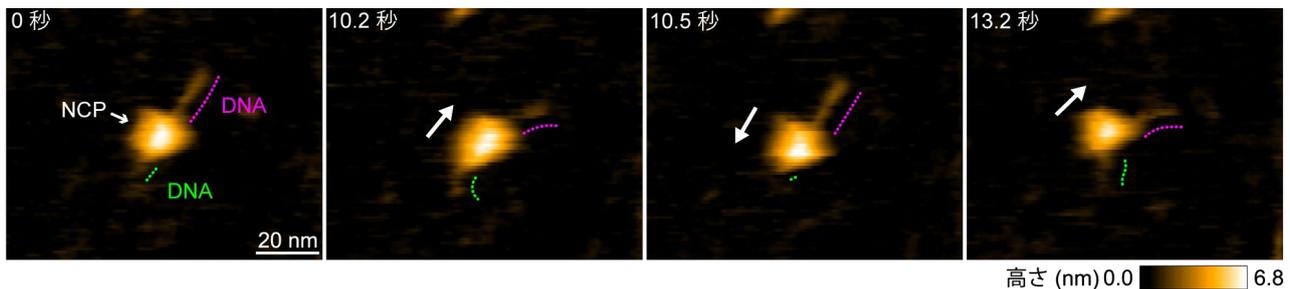


図 2：全てのヒストンテールを除去した all テールレスヌクレオソームの連続した高速 AFM 動画

1 フレーム 0.3 秒で撮影。高速 AFM の映像より、球状構造 (NCP) が、DNA 上に沿って自発的にスライディングする様子を撮影した。原著論文では動画で見ることができる。

© 2024 American Chemical Society

【掲載論文】

雑誌名：Nano Letters

論文名：High-Speed Atomic Force Microscopy Reveals the Nucleosome Sliding and DNA Unwrapping/Wrapping Dynamics of Tail-less Nucleosomes (高速原子間力顕微鏡により明らかとなったテール除去ヌクレオソームのナノダイナミクス)

著者名 : Shin Morioka, Takumi Oishi, Suguru Hatazawa, Takahiro Kakuta, Tomoki Ogoshi, Kenichi Umeda, Noriyuki Kodera, Hitoshi Kurumizaka*, Mikihiro Shibata*

(森岡新, 大石匠美, 畠澤卓, 角田貴洋, 生越友樹, 梅田健一, 古寺哲幸, 胡桃坂仁志*, 柴田幹大*)

掲載日時 : 2024 年 4 月 11 日 (米国東部時間) にオンライン版に掲載

DOI : 10.1021/acs.nanolett.4c00801

URL : <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.nanolett.4c00801>

【用語解説】

※1 : ヌクレオソーム

クロマチンの基本構成単位で, 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集合し, その周囲に DNA が巻き付いた複合体を指す。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 が細胞核内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)

試料の表面を直径数ナノメートルの探針でなぞることで, 表面形状を可視化する接触型顕微鏡。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が可能であり, 試料の構造と動きの両方を可視化することができる。

※3 : ヒストンテール

ヒストンタンパク質の N 末端・C 末端にある柔らかく, 決まった構造を持たない領域。さまざまな部位のアミノ酸残基が, アセチル化などのさまざまな翻訳後修飾を受けることでクロマチン構造を変化させ, 遺伝子発現の制御が行われる。

※4 : 翻訳後修飾

タンパク質が合成された後 (翻訳後) に, そのタンパク質を構成するアミノ酸残基にアミノ基やリン酸基などが付加される現象のこと。

【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

東京大学定量生命科学研究so 教授

胡桃坂 仁志 (くるみざか ひとし)

TEL : 03-5841-7826

E-mail : kurumizaka@iqb.u-tokyo.ac.jp

■ 広報担当

金沢大学ナノ生命科学研究so URA

山崎 輝美 (やまざき てるみ)

金沢大学ナノ生命科学研究so事務室

西村 公恵 (にしむら きみえ)

TEL : 076-234-4555

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

東京大学定量生命科学研究so総務チーム

TEL : 03-5841-7813

E-mail : soumu@iqb.u-tokyo.ac.jp