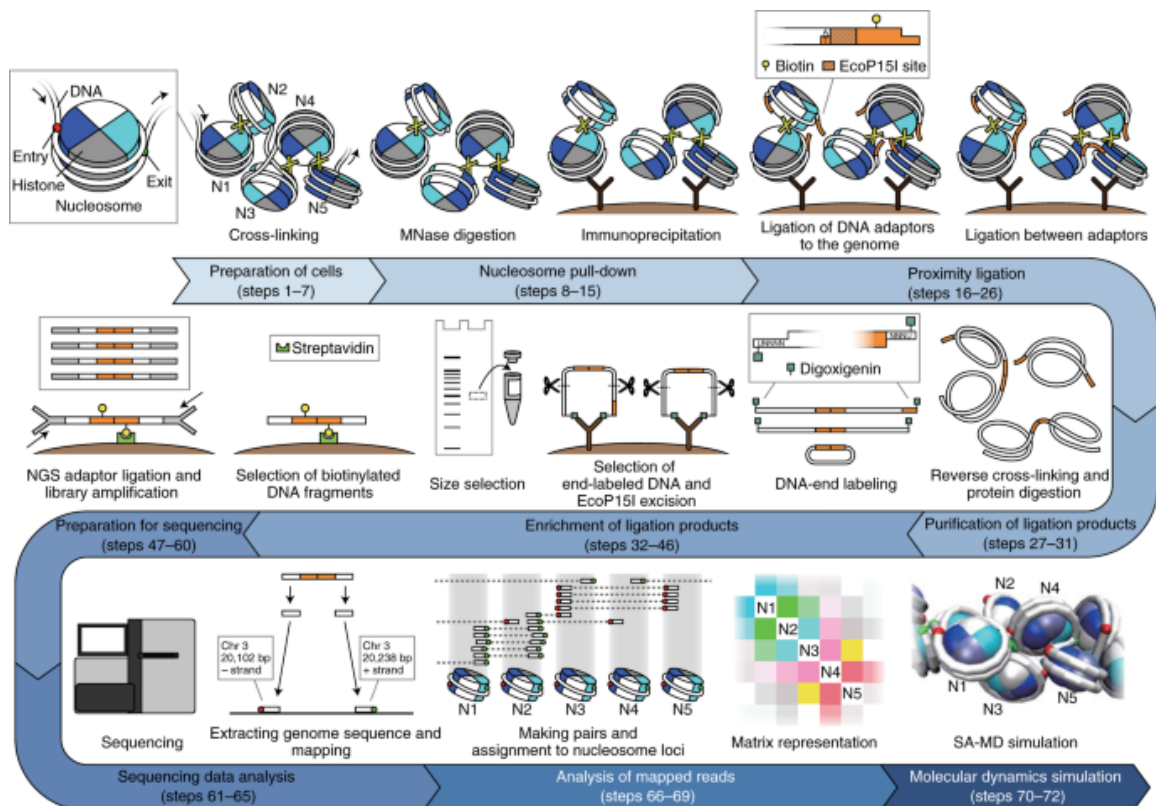


# ゲノムを対象とした新規の構造生物学分野の創生

東京大学大学院薬学系研究科 谷口 雄一

本研究では、ゲノムを構成するヌクレオソームがどのように立体的に並んでいるのかを分子レベルで捉え、その背後にある論理を明らかにすることで、遺伝子制御の仕組みを理解することを目指しています。私たちのゲノム DNA は、ヒストンというタンパク質に巻きついてヌクレオソームと呼ばれる構造を形成し、それらが連なって細胞核の中にコンパクトに収められています。DNA 配列や化学修飾といった 1 次元情報だけでは捉えきれないゲノムの「3 次元的側面」が、遺伝子の発現量制御にどのように関わっているのかを、構造そのものを直接測定することで読み解くことが、本研究の目標です。

私たちが開発した Hi-CO (High-throughput chromosome conformation capture with nucleosome Orientation) 法は、ゲノムの 3 次元構造を単位構造であるヌクレオソームの分解能で明らかにできる初めての技術です (図 1)。Hi-CO 法では、化学固定したゲノムをヌクレオソームレベルに切断した後、ゲノム内で近くにある領域同士をつなぎ合わせ、その産物を次世代 DNA シーケンサーで読み取ることで、どのヌクレオソームとどのヌクレオソームが近いかを網羅的に調べます。さらに得られた情報を基に分子動力学計算を行うことで、ヌクレオソーム分解能でのゲノムの 3 次元最適化構造を導くことができます。また Hi-CO 法では、ヌクレオソーム間の連結を専用の DNA アダプターを用いることで、ヌクレオソーム上の DNA が巻き始める点と巻き終わる点を区別して、近接性を解析することができることから、それぞれのヌクレオソームの「配向」も解析することができます。



【図 1 Hi-CO 法の原理と 3 次元構造モデリングの概要図】 (Nature Protocols 2021, Fig.1 より)

本研究の進展において最も大きな成果は、Hi-CO 法をヒト細胞に本格的に拡張し、ヒトゲノム全域をヌクレオソーム分解能で測定するための基盤を実現したことです。従来の Hi-CO 法は出芽酵母ゲノムの解析のみが可能であり、ヒトゲノムは酵母ゲノムの約 200 倍もの大きさがあるため、単純に考えると実験コストも 200 倍以上に膨らむと見込まれていました。しかし、化学固定の条件やアダプター配列、界面活性剤の選択など、プロトコルの各ステップを一つひとつ見直すことで、従来法をはるかに上回る効率で連結産物を得られるようになり、実用的なコストで実験が行えるようになりました。

3次元構造の計算でも大きく前進しました。Hi-CO データから立体構造を導くには、近接頻度を空間的な距離の制約に置き換え、分子動力学シミュレーションで最適なヌクレオソーム配置を探る必要があります。ヒトゲノムには約 1500 万個ものヌクレオソームがあるため、当初は計算時間が 200 倍以上かかると見積もっていました。そこで、ゲノム全体を階層的に扱うアルゴリズムを導入し、膨大なリソースが必要とされていたヒトゲノム全域のヌクレオソームモデルを、現実的な時間で構築できるようになりました。

得られた Hi-CO データを解析すると、1~10 個ほど離れたヌクレオソーム間の近接関係が極めて明瞭に観測され、これらの局所相互作用が遺伝子発現量と強い相関を示すことが明らかになりました。さらにはヒト特有の構造的特徴として、イントロン・エキソン領域に沿ったヌクレオソーム密度の変化や、エンハンサーとプロモーターが立体的に近接するループ構造など、より高次の機能的構造を見つけることができました。こうした構造単位は遺伝子の応答性と密接に関連しており、ゲノムの高次構造と機能を結びつける鍵になると考えられます。

さらに、構造とエピゲノムを統合的に解析するため、ヒストン修飾や転写因子の占有情報をヌクレオソーム構造と並列に高速表示できるビューアーを開発し、多層の情報を統一的に扱える環境の構築を行いました。これにより、特定の修飾が局所的なヌクレオソーム再配置を促す仕組みや、逆に構造が修飾状態を決定するメカニズムなど、双方向的な関係性を見つけ出すための基盤が整いました。

本研究は構造生物学としての基礎的な探究を基盤としていますが、その成果は幅広い分野に波及する潜在性を秘めています。ヌクレオソーム分解能で得られる構造情報は、疾患関連領域の構造異常や、ゲノム編集に対する局所的な応答性、細胞分化の誘導因子の探索など、多様な応用分野で新しい指標となる可能性があります。ゲノムの構造変化の「力学」を理解することで、また、遺伝子制御や化学修飾との関連性を明らかにすることで、細胞状態の異常を早期に捉えたり、望ましい細胞状態へと誘導するための操作点を特定したりすることも可能になるかもしれません。こうした応用は、構造生物学の範疇を超え、ゲノム科学全体の精密化、さらには社会的課題の解決につながるポテンシャルを秘めているといえます。

最後に、「ゲノムの形を見る」という壮大な問いに挑戦する機会を与えてくださった SunRiSE プログラムに、心より御礼申し上げます。

## 参考文献

- [1] Ohno M, et al. Cell 176, 520-534 (2019)
- [2] Ohno M, et al. Nature Protocols 16, 3439-3469 (2021)
- [3] Kumar V, et al. Nucleic Acids Research 48, e26 (2020)