

令和4年11月30日
東京大学
理化学研究所
科学技術振興機構 (JST)

染色体の中で折りたたまれた DNA から遺伝情報を読み取る仕組みを解明！
——リンカーヒストン H1 による転写伸長制御機構を解明——

1. 発表者：

平野 里奈 (東京大学定量生命科学研究所クロマチン構造機能研究分野・特任研究員)
胡桃坂 仁志 (東京大学定量生命科学研究所クロマチン構造機能研究分野・教授)
江原 晴彦 (理化学研究所生命機能科学研究センター転写制御構造生物学研究チーム・研究員)
関根 俊一 (理化学研究所生命機能科学研究センター転写制御構造生物学研究チーム・チームリーダー)

2. 発表のポイント：

- ◆染色体の中で DNA の折りたたみを担うリンカーヒストン (H1) が、遺伝子の読み取り装置である RNA ポリメラーゼ II にどのような作用を及ぼすのかについては、ほとんど明らかにされていませんでした。
- ◆RNA ポリメラーゼ II が、H1 により折りたたまれた DNA を読み取る様子 (立体構造) を、クライオ電子顕微鏡を用いて解析しました。その結果、H1 が RNA ポリメラーゼ II の反応を一時停止させることを明らかにしました。
- ◆H1 の存在量の異常や H1 のアミノ酸配列の変異は、細胞のがん化に関与していると考えられています。そのため本研究は、H1 の関わるがん化のメカニズムの解明につながることで期待されます。

3. 発表概要：

東京大学定量生命科学研究所の平野里奈 特任研究員、胡桃坂仁志 教授らの研究チームは、理化学研究所生命機能科学研究センターの江原晴彦 研究員、関根俊一 チームリーダーとの共同研究で、RNA ポリメラーゼ II (注1) が、リンカーヒストン (H1) (注2) により折りたたまれた DNA の遺伝情報を読み取る仕組みを解明しました。

ヒトを含む高等真核生物の DNA は、コアヒストン (注2) に巻き付いたヌクレオソーム (注3) を形成しています。ヌクレオソームは H1 が結合することによって、DNA がさらに折りたたまれた構造体であるクロマトソームを形成します (図1)。DNA の遺伝情報が機能するには、H1 によるクロマトソーム形成によって折りたたまれた DNA を、その読み取り装置である RNA ポリメラーゼ II によりメッセンジャーRNA へと写し取る (転写する) 必要があります。しかし、クロマトソームに折りたたまれた DNA の転写の際に、H1 が RNA ポリメラーゼ II にどのような作用を及ぼすのかについては、未だに明らかにされていませんでした。

そこで本研究チームは、RNA ポリメラーゼ II がクロマトソームの DNA を転写する反応を試験管内で再現し、その転写反応過程の様子を、クライオ電子顕微鏡 (注4) を用いた立体構造

解析により解明しました。今回明らかになった立体構造から、RNA ポリメラーゼ II がクロマトソームを転写する際に、H1 が RNA ポリメラーゼ II の進行を一時停止させる様子が明らかとなりました。

H1 存在量の異常や H1 のアミノ酸配列の変異は、がん化と密接に関連していることが知られています。H1 は転写量を制御する因子であるため、これらの H1 の異常による転写制御の不具合は、がん化に関わると考えられます。そのため、本成果は、H1 の異常によって引き起こされるタイプの細胞がん化のメカニズムの理解につながる事が期待されます。

本研究は主に、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研究と創薬のための再構成クロマチンの生産と性状解析」（代表：胡桃坂仁志、JP21am0101076）と「クライオ電子顕微鏡による分子・細胞構造解析の支援と高度化」（代表：吉川雅英、JP22ama121002j001）、日本学術振興会（JSPS）の新学術領域研究「遺伝子制御の基盤となるクロマチンポテンシャル」（代表：胡桃坂仁志、JP18H05534）、基盤研究(B)「転写と共役したヌクレオソーム再構築の分子メカニズムの解明」（代表：江原晴彦、JP20H03201）、基盤研究(A)「クロマチン上で起こる転写と共役した二重鎖切断修復の分子機構の解明」（代表：胡桃坂仁志、JP20H00449）、基盤研究(S)「転写と中核的な生命機能を結びつける高次複合体の構造基盤」（代表：関根俊一、JP20H05690）、「クライオ電子顕微鏡によるネイティブなセントロメアクロマチンの立体構造解析」（代表：滝沢由政、JP22K06098）、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)の支援を受けて実施されました。

4. 発表内容：

研究の背景・先行研究における問題点

ヒトを含む真核生物の DNA は、様々なタンパク質と結合し折りたたまれることで、細胞核内に収納されています。DNA 折りたたみ構造の基本単位であるヌクレオソームは、コアヒストンタンパク質に DNA が巻き付いた構造体であり、それらはリンカーDNA により連結されることで数珠状に連なっています。細胞核内には H1 が多く存在します（存在量は細胞種により異なり、ヌクレオソームの 50-130%の量が存在）。H1 はヌクレオソームに結合し、クロマトソームを形成します。この結合によりリンカーDNA の向きが固定され、DNA がさらに高次に折りたたまれます（図 1）。DNA の遺伝情報が機能を発揮するためには、H1 によって高次にクロマトソームとして折りたたまれた DNA を、その読み取り装置である RNA ポリメラーゼ II によりメッセンジャーRNA へと転写する必要があります。しかし、クロマトソーム中に折りたたまれた DNA を RNA ポリメラーゼ II がどのように転写するのか、またその際に H1 が RNA ポリメラーゼ II にどのような作用を及ぼすのかについては、ほとんど明らかにされていませんでした。

研究内容

そこで本研究チームは、試験管内において、クロマトソームの DNA を RNA ポリメラーゼ II によって転写させる実験を行いました。その結果、H1 は RNA ポリメラーゼ II をヌクレオソームの手前で一時停止させることを発見しました。次に、H1 が RNA ポリメラーゼ II を一時停止させるメカニズムを解析するため、RNA ポリメラーゼ II がクロマトソーム上を転写している最中の複合体を調製し、クライオ電子顕微鏡を用いた立体構造解析を行いました。その結果、H1 が RNA ポリメラーゼ II を一時停止させるステップにおける構造を明らかにしました（図 2）。得られた構造から、まず、ヌクレオソームの手前においては、H1 によって固定されたり

ンカーDNA が RNA ポリメラーゼ II と接触することで、RNA ポリメラーゼ II を一時停止させることが明らかになりました。その後、転写が再開し数塩基進行すると、H1 自身が RNA ポリメラーゼ II と接触し、再び RNA ポリメラーゼ II を一時停止させることが分かりました (図 3)。加えて、RNA ポリメラーゼ II に結合し転写伸長を促進することが知られている Spt4 と Spt5 の複合体 (Spt4/5) (注 5) が、RNA ポリメラーゼ II のクロマトソームにおける一時停止頻度を著しく低下させることを明らかにしました。

社会的意義・今後の展望

高等真核生物では、生命の根幹である転写反応やその転写制御は、クロマトソーム上で行われます。そのため、本研究で得られた知見は、H1 が存在する高等真核生物の、全ての遺伝子発現制御の基盤となるメカニズムを提供するものです。

H1 の発現異常や変異はがん化などの疾患に関与しています。また、クロマチン構造による遺伝子発現制御であるエピジェネティクスの重要なメカニズムの一部でもあります。そのため、本研究で明らかとなった H1 による転写伸長制御メカニズムの知見は、発生分化などの生命現象の理解を深めるのみならず、H1 の異常によって引き起こされるタイプの細胞がん化のメカニズムの理解につながると期待されます。

5. 発表雑誌：

雑誌名： Nature Communications

論文タイトル： Structural basis of RNA polymerase II transcription on the chromatosome containing linker histone H1

著者： Rina Hirano, Haruhiko Ehara, Tomoya Kujirai, Tamami Uejima, Yoshimasa Takizawa, Shun-ichi Sekine, Hitoshi Kurumizaka,

DOI 番号： 10.1038/s41467-022-35003-z

URL： <https://doi.org/10.1038/s41467-022-35003-z>

6. 問い合わせ先：

<本研究に関するお問い合わせ>

東京大学 定量生命科学研究所

教授 胡桃坂 仁志 (クルミザカ ヒトシ)

Tel : 03-5841-7826 Fax : 03-5841-1468

E-mail : kurumizaka "AT" iqb.u-tokyo.ac.jp

理化学研究所 生命機能科学研究センター

チームリーダー 関根 俊一 (セキネ シュンイチ)

E-mail : shunichi.sekine "AT" riken.jp

<JST 事業に関するお問い合わせ>

科学技術振興機構 研究プロジェクト推進部

今林 文枝 (イマバヤシ フミエ)

Tel : 03-3512-3528 Fax : 03-3222-2068

E-mail : eratowww “AT” jst.go.jp

<報道担当>

東京大学 定量生命科学研究所 総務チーム

Tel : 03-5841-7813 Fax : 03-5841-8465

E-mail : soumu “AT” iqb.u-tokyo.ac.jp

理化学研究所 広報室 報道担当

Tel : 050-3495-0247

E-mail : ex-press “AT” ml.riken.jp

科学技術振興機構 広報課

Tel : 03-5214-8404 Fax : 03-5214-8432

E-mail : jstkoho “AT” jst.go.jp

※E-mail は上記アドレス “AT” の部分を@に変えてください。

7. 用語解説：

(注1) RNA ポリメラーゼ II

DNA の塩基配列を読み取り、その相補的な RNA を合成する酵素。DNA に含まれる遺伝情報が機能するための必須の転写のステップを担う。

(注2) リンカーヒストン (H1)、コアヒストン

ヒストンは、DNA の折りたたみを担う主なタンパク質である。ヒストンには5種類あり、ヌクレオソームを構成する4種類のコアヒストン (H2A、H2B、H3、H4) と、ヌクレオソームとそれらをつなぐリンカーDNA に結合するリンカーヒストン H1 が存在する。H1 はヌクレオソームに結合することで、リンカーDNA の配向を規定し、DNA を折りたたむ働きを持つ。

(注3) ヌクレオソーム

4種類のコアヒストンからなる複合体にDNA が巻き付いた安定な構造体 (図1)。

(注4) クライオ電子顕微鏡

低温状態で凍結試料に電子線を照射し、原子レベルで生体分子の形状を観察することができる装置。試料を凍結することで、電子線によるダメージから生体分子を保護するとともに、溶液中でのタンパク質の構造観察を可能にする。

(注5) Spt4/5

Spt4 と Spt5 の複合体。転写伸長因子の一つで、RNA ポリメラーゼ II によるヌクレオソームDNA の転写を促進する。

8. 添付資料：

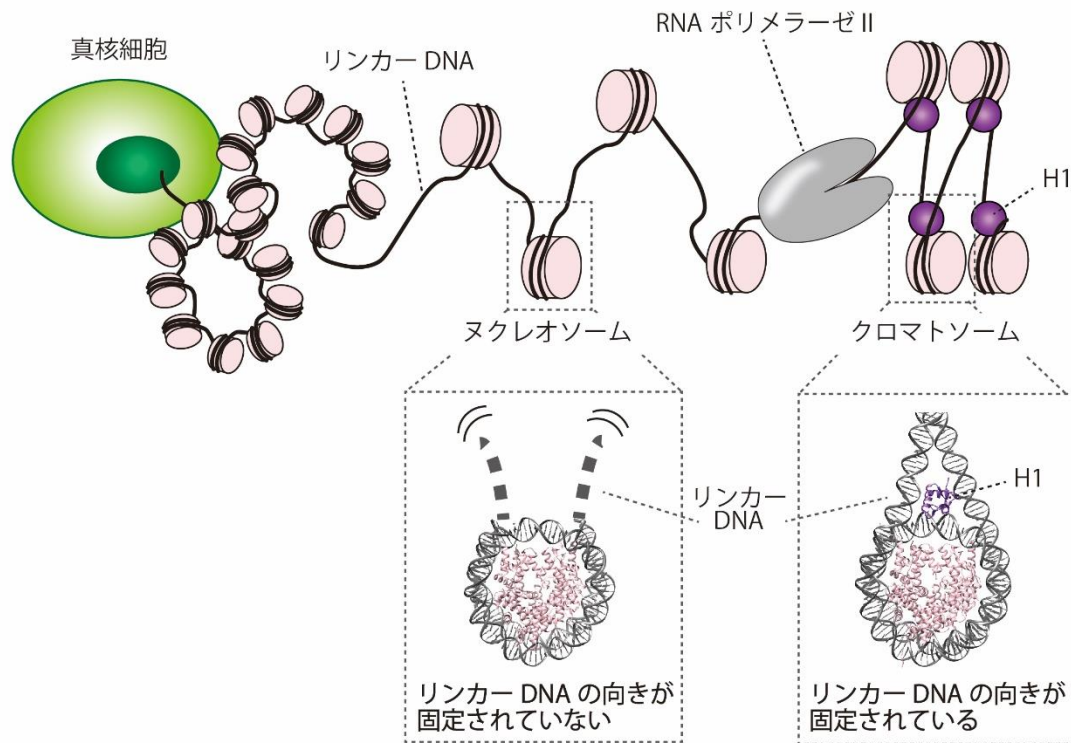


図1. 真核生物の DNA 折りたたみ構造のイメージ図

ヒトを含む真核生物の DNA は、様々なタンパク質と結合し折りたたまれることで、細胞核内に収納されている。DNA 折りたたみ構造の基本単位であるヌクレオソームは、コアヒストンに DNA が巻き付いた構造体であり、それらはリンカー DNA により連結されることで数珠状に連なっている。多くのヌクレオソームには H1 が結合しており、この結合によりリンカー DNA の向きが固定され、DNA がさらに折りたたまれる。

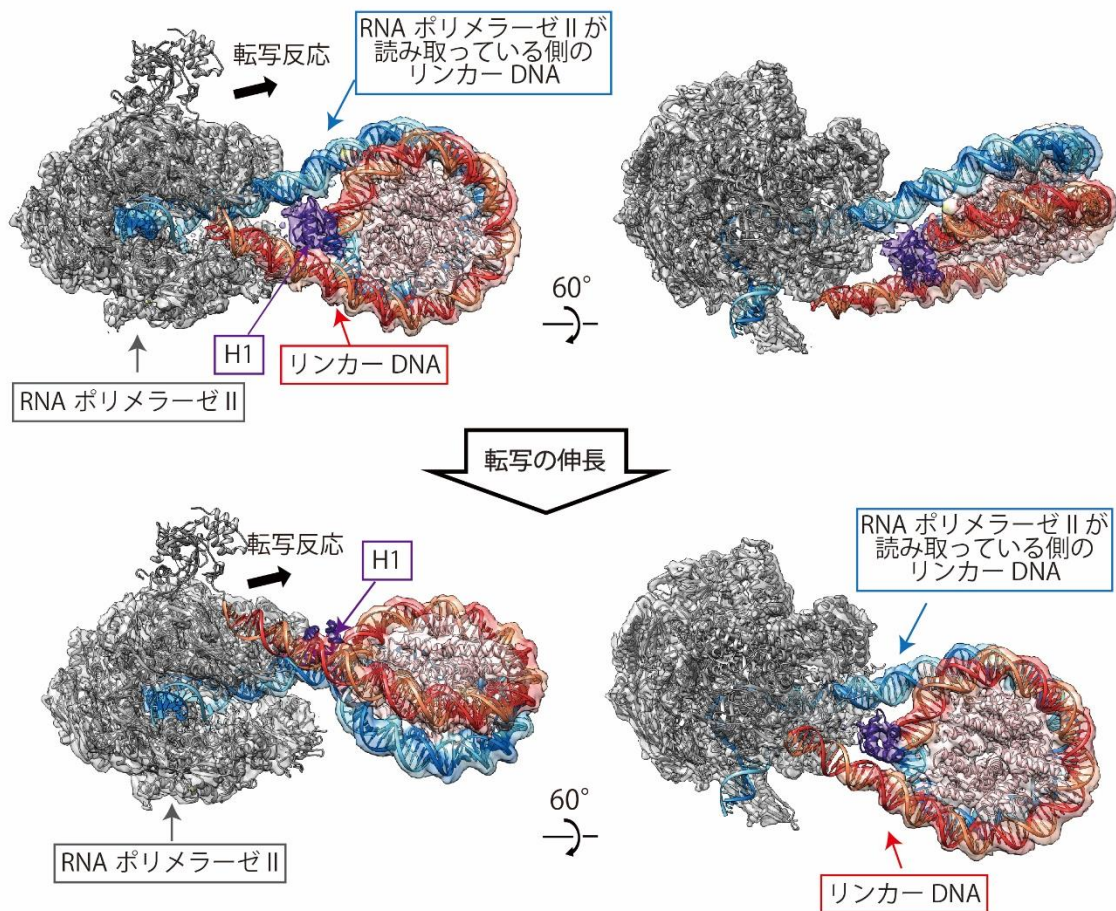


図2. 本研究で明らかになった、H1 が RNA ポリメラーゼ II をヌクレオソームの手前で一時停止させる各ステップの構造

ヌクレオソームに入る手前において、RNA ポリメラーゼ II は、H1 によって固定されたリンカー DNA と接触することで一時停止する（上）。その後転写が再開し数塩基進むと、RNA ポリメラーゼ II は H1 に接触し、再度一時停止する（下）。

ヌクレオソームの DNA を転写

クロマトソームの DNA を転写
(今回明らかとなった成果)

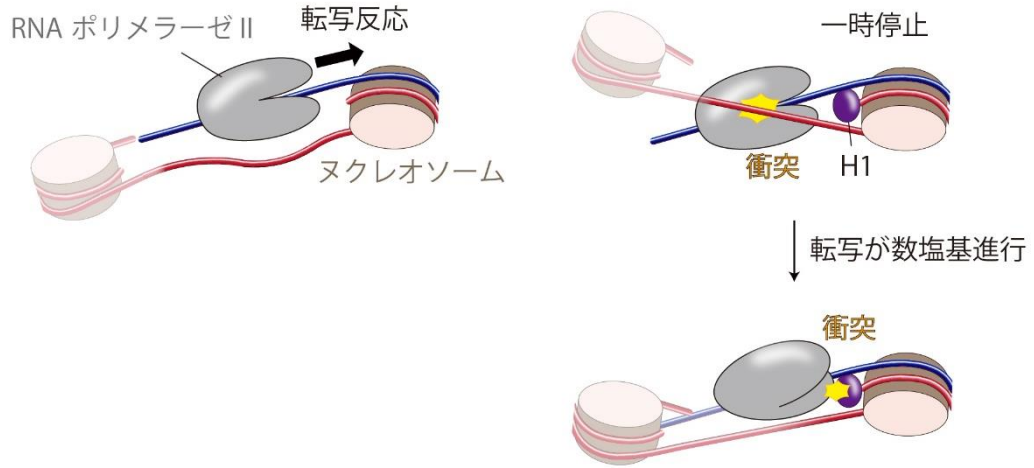


図3. 本研究から得られた、RNA ポリメラーゼ II が H1 により折りたたまれた DNA を転写するモデル図

RNA ポリメラーゼ II がヌクレオソームの DNA を転写する際には、ヌクレオソームの手前の領域では転写がスムーズに進行する（左）。一方で、クロマトソームの DNA を転写する場合、ヌクレオソームに入る手前において、RNA ポリメラーゼ II は、H1 によって固定されたリンカー DNA と接触することで一時停止する。その後転写が再開し数塩基進むと、RNA ポリメラーゼ II は H1 に接触し、再度一時停止する（右）。