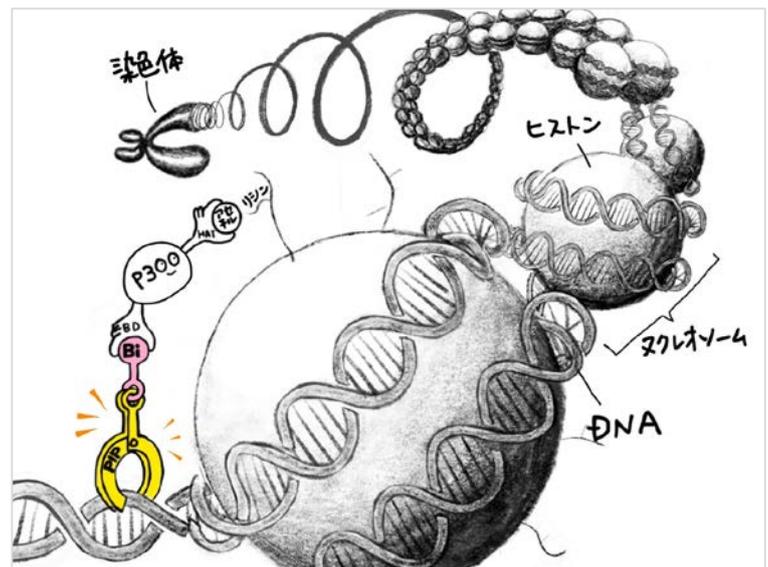


特定の場所の遺伝子を活性化できる新しい分子を開発

- 染色体中のヌクレオソームという構造の中のヒストン中に存在する、リシンがアセチル化することが、遺伝子活性化を制御している
- 今回開発した分子によりリシンをアセチル化する作用のある分子を特定の場所に誘導できる
- これにより、特定の場所の遺伝子を活性化できる。遺伝子活性異常が引き起こす病気の研究に応用が期待される。

京都大学 高等研究院 物質-細胞統合システム拠点 (iCeMS) のガネシュ・パンディアン・ナマシヴァヤム (Ganesh Pandian Namasivayam) 助教、杉山 弘 (すぎやま・ひろし) 連携主任研究者 (兼 理学研究科 教授)、理学研究科の谷口純一 (たにぐち・じゅんいち) 博士課程学生 (現 理化学研究所生命機能科学研究センター博士研究員) らの研究チームは、人工的に狙った場所の遺伝子を活性化できる分子を新たに開発しました。

DNAは「ヒストン」というタンパク質分子に巻きついて、「ヌクレオソーム」という構造体を形成しています。ヒストンには細い毛のような突起がいくつもあり、その突起中に「リシン」というアミノ酸が存在します。このリシンにアセチル基が結合 (リシンのアセチル化) することが、DNAの持つ遺伝子情報を実際の生理現象にする活動が活発になる (遺伝子が活性化) かどうかを制御しています。人為的に、狙った場所のリシンをアセチル化することができれば、任意の場所の遺伝子を活性化することができ、病気の治療や再生医療研究への応用が期待されます。しかし、それを可能にする薬剤はありませんでした。



P300と呼ばれるタンパク質があります。このタンパク質には、リシンをアセチル化する酵素 (HAT) と「プロモドメイン」という領域が含まれています。

今回、研究チームはプロモドメインに結合する分子「Bi」と特定のDNA配列に結合する分子「PIP」を組み合わせることで、狙ったDNA配列へ配置可能な「Bi-PIP」という分子を開発しました。Bi-PIPは、PIPの部分で標的のヌクレオソームのDNAに結合し、Biの部分でP300中のプロモドメインと結合します。その結果、P300中に同じく含まれるHATによって、そのヌクレオソーム内のヒストンがアセチル化され、遺伝子を活性化します。

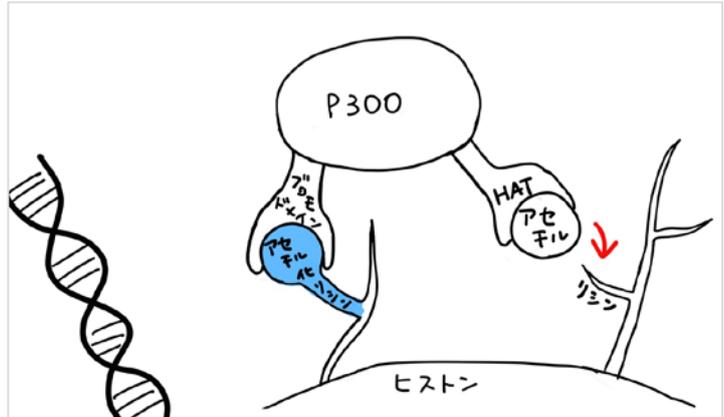
研究では、標的のヌクレオソームと標的でないヌクレオソームに対して、Bi-PIPとP300を作用させると、標的のヌクレオソームのヒストンのみがP300によりアセチル化を受けることを見出しました。これは、標的のヌクレオソームにBi-PIPが結合し、そこにP300が結合して作用したことを示します。また、Bi-PIPをヒト細胞に投与すると、標的配列の領域でアセチル化を促して遺伝子が選択的に活性化しました。

ヒストン内に書き込まれた情報や遺伝子活性の異常が引き起こす病気の治療薬や、再生医療研究へ応用される可能性があります。また本研究と同様のアイデアにより、他にも様々なヒストンへの情報の書き込み方法が生まれることが期待されます。

本成果は、米国東部時間5月24日正午 (日本時間25日午前1時) に米科学誌「Journal of the American Chemical Society」のオンライン版で公開されました。

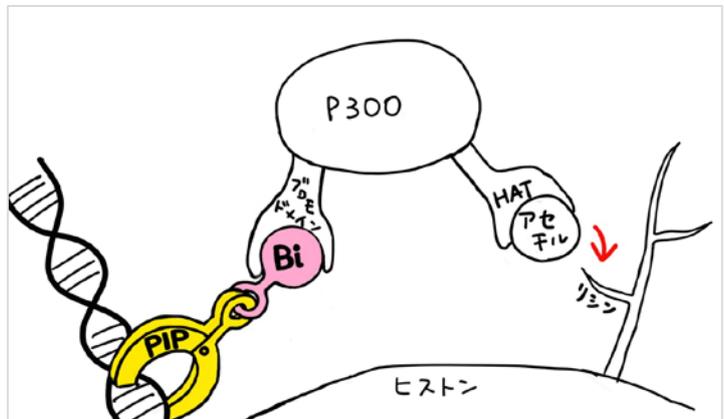
1. 背景

遺伝子情報が書き込まれている DNA は、細胞内でヒストンというタンパク質とともにヌクレオソームという構造体を形成しています。およそ 2 万個にも及ぶ遺伝子の活性は、ヒストンに書き込まれる目印によって個別に制御されています。この目印をヒストンコード（※ 1）と呼びます。ヒストンコードは別のタンパク質に「読まれる」ことで機能を発揮します。例えば、ヒストンコードの一つであるアセチル化リシンは遺伝子の活性化に関わっており、P300 というタンパク質のプロモドメインに読まれます。その結果、近くのヒストンが新しくアセチル化されてアセチル基の伝搬が起こり、遺伝子活性化へつながります（※ 2）。このようにヒストンコードは遺伝子活性に重要であり、人為的にヒストンコードを書き込むことができれば病気の治療や再生医療研究への応用が期待されます。しかし、それを可能にする薬剤はありませんでした。



2. 研究内容と成果

ブロモドメインに選択的に結合してそのアセチル化リシン認識能を阻害する、ブロモドメイン阻害剤と呼ばれる化合物が近年数多く報告されてきました。このブロモドメイン阻害剤は、ブロモドメインのポケットへ入り込むため、アセチル化リシンと同じようにブロモドメインに「読まれる」ことができるといえます。したがって、ブロモドメイン阻害剤を特定の DNA 領域に「とどめておく」ことができれば、ちょうど特定のヒストンに書き込まれたアセチル基のように、ブロモドメインに読まれ、遺伝子を活性化できると考えました。そこで、研究グループは P300 選択的なブロモドメイン阻害剤「Bi」に、特定の DNA 配列に結合できる化合物「PIP（※ 3）」を結合させて、「Bi-PIP」という新しい化合物を設計・合成しました。Bi-PIP は標的 DNA へ結合するとどまり、P300 のブロモドメインに読まれることで、人工的なヒストンコードとしてはたらくことが期待されます。



Bi-PIP の機能を評価するために、Bi-PIP の標的となる DNA 配列を持つヌクレオソーム

(Nuc1) と標的とならない配列を持つヌクレオソーム (Nuc2) を用意し、P300 によるヒストンアセチル化実験を行いました。Bi-PIP が存在しない場合、Nuc1 と Nuc2 はほとんどアセチル化されませんでした。一方、Bi-PIP が存在したとき、標的である Nuc1 のみにおいて P300 によるアセチル化が劇的に促進しました。これは、Bi-PIP が Nuc1 に結合し、P300 によって「読まれた」ことを示します。つまり、Bi-PIP は人工のヒストンコードとして機能することが証明されました。

次に、細胞内のヌクレオソームにも働くかどうか調べました。標的の DNA 配列が異なる 2 つの Bi-PIP (Bi-PIP1、Bi-PIP2) をヒトの培養細胞に投与し、ChIP-seq という方法（※ 4）を用いてヒストンがアセチル化された領域を解析しました。その結果、Bi-PIP1 の標的領域は Bi-PIP1 に、Bi-PIP2 の標的領域は Bi-PIP2 に、それぞれアセチル化されやすいことがわかりました。次に、マイクロアレイ（※ 5）を用いて Bi-PIP1、Bi-PIP2 によって活性化される遺伝子を調べたところ、標的 DNA の違いによって異なる遺伝子が活性化されることが見いだされました。これらの結果から、Bi-PIP は細胞内でも人工ヒストンコードとしてはたらく、標的領域でヒストンのアセチル化や遺伝子活性化を促すことが示されました。

3. 今後の展開

今回開発した Bi-PIP は、天然のアセチル基と同様プロモドメインによって読まれるため、実際のヒストンコードと同じような機構ではたらくことができます。これに加えて、(1)プロモドメインへの結合力が天然のアセチル基よりも強いこと、(2)人工的な化合物であるため生体内での分解を受けにくいこと、(3)PIP の構造を変えることで任意の DNA 配列を狙えること、といった利点を持っています。今後の展開として、Bi-PIP はヒストンコードや遺伝子活性の制御異常が引き起こす病気の治療薬や、再生医療研究へ応用される可能性があります。また本研究と同様のアイデアにより、他のさまざまな人工ヒストンコードの開発も期待されます。

4. 用語解説

- ※ 1 ヒストンが合成された後に、ヒストン中の特定のアミノ酸（リシンやアルギニンなど）に化学結合によって書き込まれる（翻訳後修飾という）。代表的な翻訳後修飾の種類として、アセチル基、メチル基、リン酸基などがある。このようなヒストンの翻訳後修飾が遺伝子の活性を制御するという「ヒストンコード仮説」が2001年C. David AllisとThomas Jenuweinにより提唱され、その後さまざまな例が実証されてきた。ヒストンコードは、書き込むタンパク質、消し去るタンパク質、読むタンパク質によって調節されており、それぞれライター（writer）、イレイサー（eraser）、リーダー（reader）と呼ばれる。
- ※ 2 複数のドメインから成る巨大なタンパク質であり、活性化されている遺伝子の領域に存在する。ドメインにはアセチル基のリーダーであるプロモドメインやアセチル基のライターであるHAT（ヒストンアセチル基転移酵素）が含まれている。リーダーとライターの共存により、既存のアセチル基が読まれ、近くに新しいアセチル基が書き込まれることで、アセチル基が「伝搬」し、遺伝子活性化へつなげると考えられる。Bi-PIPによる標的ヒストンのアセチル化は、このアセチル基伝搬メカニズムを利用している。
- ※ 3 ピロールイミダゾールポリアミド（Pyrrole-Imidazole Polyamide）。Peter B. Dervanらによって開発されたDNA結合分子であり、本研究グループもPIPの研究を行っている。ユニットの組み換えにより任意のDNA配列を狙えることが最大の特徴であり、抗がん剤などとしての応用が期待される分子である。
- ※ 4 クロマチン免疫沈降—シーケンシング（Chromatin ImmunoPrecipitation-Sequencing）。細胞の核（クロマチン）から、抗体を用いてアセチル基など特定の修飾が存在するDNA領域を選別する（免疫沈降）。得られたDNAを次世代シーケンシングで解析することにより、修飾が存在していた領域を調べることができる。
- ※ 5 細胞内の遺伝子の産物（RNA）を蛍光分子でラベル化し、遺伝子の種類（配列の種類）ごとにマイクロアレイと呼ばれる小さなチップ上に並べ、蛍光をスキャンすることで、各遺伝子の産物量を測定する方法。

5. 研究プロジェクトについて

JSPS基盤研究(S)“人工遺伝子スイッチを用いた遺伝子発現の制御と機構の解明”[16H06356]
JSPS特別研究員奨励費“人工遺伝子スイッチ S A H A - P I P による心筋細胞の誘導”[15J02111]
京都大学SPIRITS“3カ国間技術提携による転写因子様ナノ粒子の開発と関節軟骨再生の実現”
JSPS挑戦的萌芽研究“ナノ粒子ベース人工転写因子を用いた弓矢リプログラミング法による心筋細胞の誘導”[16K12896]

6. 論文タイトル・著者

“Biomimetic Artificial Epigenetic Code for Targeted Acetylation of Histones”

(参考訳：生体分子を模倣した人工エピジェネティックコードによる、標的ヒストンの選択的なアセチル化)

著者：Junichi Taniguchi, Yihong Feng, Ganesh N Pandian, Fumitaka Hashiya, Takuya Hidaka, Kaori Hashiya, Soyoung Park, Toshikazu Bando, Shinji Ito, Hiroshi Sugiyama

Journal of the American Chemical Society | DOI: 10.1021/jacs.8b01518

7. iCeMS について

京都大学 高等研究院 物質－細胞統合システム拠点 (iCeMS=アイセムス) は、文部科学省「世界トップレベル研究拠点 (WPI) プログラム」に平成 19 年度に採択され、平成 29 年にはその研究水準および運営が世界トップレベルであるとして、「WPI アカデミー拠点」に認定された研究拠点です。iCeMS では、生物学、物理学、化学の分野を超えて新しい学問を作り、その学問を社会に還元することを目標に活動している日本で唯一の研究所です。その新しい学問からは、汚水や空気の浄化といった環境問題の解決、脳の若返りといった医療に役立つ可能性を秘めたとてつもないアイデアが次々と生まれています。

詳しくはウェブサイトをご覧ください。 <http://www.icems.kyoto-u.ac.jp/>