

# R N G

Replication of Non Genome

# Newsletter



RNG

Replication of Non Genome

新学術領域研究(研究領域提案型)  
多様かつ堅牢な細胞形質を支える  
非ゲノム情報複製機構  
略称:非ゲノム情報複製  
領域番号:7103

# 09

2024 March

# R N G

Replication of Non Genome

## Newsletter

新学術領域研究(研究領域提案型)  
多様かつ堅牢な細胞形質を支える  
非ゲノム情報複製機構  
(略称:非ゲノム情報複製/7103)

# 09

2024 March



表紙イラスト:

アンリ・ジュリアン・フェリックス・ルソー(Henri Julien Félix Rousseau, 1844年5月21日 - 1910年9月2日)  
『眠るジプシー女』(La Bohémienne endormie)

## CONTENTS

02 領域代表挨拶

04 研究業績紹介

10 コラム 石黒 啓一郎

11 活動報告

12 受賞・人事

Greeting 領域代表挨拶

## あと残りわずか

まず初めに、本年元日の午後に発生した能登半島地震により被害に遭われた多くの皆様に心からお悔やみとお見舞い申し上げます。

さて早いもので、この3月をもってこの新学術領域研究も終わりを迎えることとなります。発足した当時は5年先のことなど遥か彼方の感がありましたが、いざこの5年間を振り返ってみるとなんと短い期間であったのかと改めて実感します。本領域自体の研究についてはこの間着実な進展があった様に思います。非ゲノム情報(エピゲノム)により規定される様々な生命現象が明らかになる一方、新たな技術革新も相まって非ゲノム情報がどのようにクロマチン状態を制御するのかについても理解が進みました。とはいえ、非ゲノム情報の中核を成すヒストン修飾の複製機構については未だ全貌が見えず悔いが残る結果となりました。領域外に目を移すとこの5年間で最も進歩があったのは生成AI技術ではないでしょうか。2022年11月にChatGPTがOpenAIにより公開されて以来、日常生活のあらゆる場面での利用が想定されています。とりわけ教育現場では大半の学生がレポート作成にChatGPTを利用していると言っても過言ではないでしょう。例えばこのNews letterの挨拶文もChatGPTで簡単に作成できるようになりました(もちろんこの文章にはChatGPTは全く使用しておりません)。5年前には想像もできなかった状況です。このような技術革新は次の5年間も必ずや起こることでしょう。生成AIを生命科学に活用していくことは必然ですが、具体的にどの様に活用するのか、この辺りのアイデア次第で成果に大きな違いが出そうです。ある意味楽しみな時代が到来したのかも知れません。

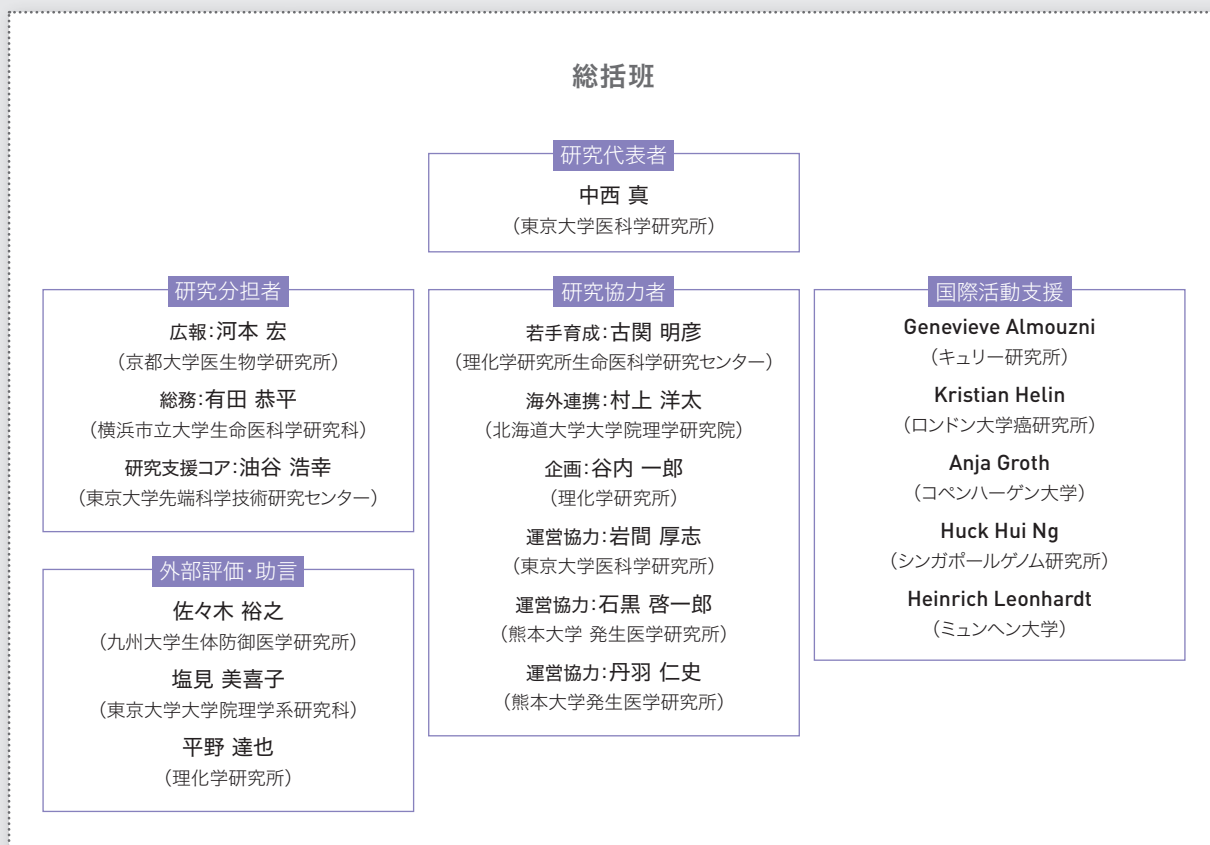


領域代表

中西 真

東京大学医科学研究所 教授

# Organization 組織



## 計画研究班

### A01 非ゲノム情報の基本的複製機構

- 研究代表者** 中西 真(東京大学医科学研究所)
- 研究分担者** 鶴木 元香(東京大学大学院医学系研究科)  
藤 泰子(東京工業大学 生命理工学院)
- 研究代表者** 有田 恭平(横浜市立大学生命医科学研究科)
- 研究代表者** 村上 洋太(北海道大学大学院理学研究院)
- 研究代表者** 石黒 啓一郎(熊本大学発生医学研究所)
- 研究代表者** 油谷 浩幸(東京大学先端科学技術研究センター)
- 研究分担者** 永野 隆(大阪大学蛋白質研究所)

### A02 非ゲノム情報複製機構による細胞機能制御

- 研究代表者** 古関 明彦(理化学研究所生命医科学研究センター)
- 研究分担者** 遠藤 高帆(理化学研究所生命医科学研究センター)
- 研究代表者** 岩間 厚志(東京大学医科学研究所)
- 研究分担者** 北村 俊雄(東京大学医科学研究所)
- 研究代表者** 谷内 一郎(理化学研究所)
- 研究分担者** 河本 宏(京都大学医生物学研究所)
- 研究代表者** 丹羽 仁史(熊本大学発生医学研究所)

## 公募研究班

### A01 非ゲノム情報の基本的複製機構

- 研究代表者** 加納 純子(東京大学大学院総合文化研究科)
- 研究代表者** 宮成 悠介(金沢大学 ナノ生命科学研究所)
- 研究代表者** 池田 陽子(岡山大学資源植物科学研究所)
- 研究代表者** 落合 博(九州大学生体防御医学研究所)
- 研究代表者** 前原 一満(九州大学生体防御医学研究所)
- 研究代表者** 高橋 達郎(九州大学大学院理学研究院)
- 研究代表者** 鐘巻 将人(国立遺伝学研究所)
- 研究代表者** 服部 奈緒子(星薬科大学 先端生命科学研究所)
- 研究代表者** 正井 久雄(東京都医学総合研究所)

### A02 非ゲノム情報複製機構による細胞機能制御

- 研究代表者** 星居 孝之(千葉大学大学院医学研究院)
- 研究代表者** 黒川 峰夫(東京大学医学部附属病院)
- 研究代表者** 岸 雄介(東京大学定量生命科学研究所)
- 研究代表者** 横林 しほり(京都大学IPS細胞研究所)
- 研究代表者** 深川 竜郎(大阪大学大学院生命機能研究科)
- 研究代表者** 鈴木 淳史(九州大学生体防御医学研究所)
- 研究代表者** 秋山 智彦(横浜市立大学医学部)
- 研究代表者** 坂下 陽彦(慶應義塾大学医学部)
- 研究代表者** 立和名 博昭(かん研究会)

# 白血病におけるヒストンメチル化酵素SETD1Aは有糸分裂制御因子BuGZ/BUB3を必要とする

～細胞周期依存的なエピゲノム修飾因子の役割と新規蛋白複合体の同定～

星居 孝之(千葉大学大学院医学研究院)

Perlee S, Kikuchi S, Nakadai T, Masuda T, Ohtsuki S, Matsumoto M, Rahmutulla B, Fukuyo M, Cifani P, Kentsis A, Roeder RG, Kaneda A, **Hoshii T**. SETD1A function in leukemia is mediated through interaction with mitotic regulators BuGZ/BUB3. *EMBO Rep.* 24(10):e57108 (2023)

白血病におけるヒストンメチル化酵素 SETD1A は有糸分裂制御因子 BuGZ/BUB3 を必要とする。～細胞周期依存的なエピゲノム修飾因子の役割と新規蛋白複合体の同定～

哺乳類では原始的な真核生物で1種のヒストン H3K4 メチル化修飾酵素が6種に分歧しており、個体発生やがんの中で独自の機能を持つ。私たちは白血病モデルを用いた研究から H3K4 メチル化修飾酵素の一つである SETD1A がメチル化修飾と独立した転写調節機能を持つことを報告してきた。しかしながら、RNA ポリメラーゼの制御に関わる以外についての詳細は不明であった。

本研究では私たちが以前に同定した SETD1A の機能性配列 FLOS (Functional Location on SETD1A の略) に結合する分子として、新たに BuGZ と BUB3 を見出した。BuGZ と BUB3 の複合体は有糸分裂時の微小管形成に必須の分子として報告されているが、転写制御に関する役割は明らかではない。細胞内蛋白を可視化すると、BuGZ や BUB3 は染色体分配が生じる M 期だけでなく、G1/S 期にも強く発現し、核内に局在した (図 1)。ChIP-seq 法から BuGZ/BUB3 は SETD1A の結合する転写開始点と、隣接するエンハンサー様の領域に局在することが明らかとなった。



図 1 SETD1A と BuGZ の細胞内共局在

shRNA や CRISPR-Cas9 にて BuGZ の働きを阻害すると、白血病細胞ではアポトーシスの亢進や、G1 もしくは G2/M 期での細胞周期の停止が認められた。白血病モデルマウスでは BuGZ の機能阻害により生存期間の延長効果が観察された。BuGZ を阻害した細胞では SETD1A 欠損と一部で共通した遺伝子発現の低下が認められた。SETD1A の FLOS ドメインは

BuGZ の C 末端側に存在する GLEBS ドメインと結合し、リン酸化制御を受ける可能性が明らかとなった。BuGZ の C 末端側は天然変性領域であり、微小管形成ではこの天然変性領域が相分離形成誘導に必要である。相分離が誘導出来ない BuGZ 変異体発現細胞 (FY>S) を樹立して解析したところ、SETD1A の結合は抑制され、白血病細胞の増殖も阻害された (図 2)。

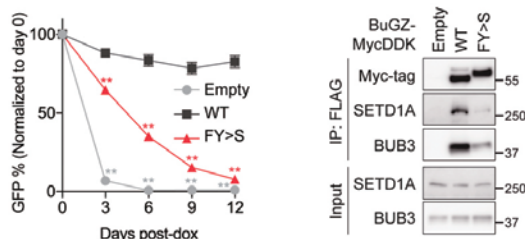


図 2 BuGZ 変異体の機能低下と SETD1A 結合能喪失

BuGZ/BUB3 との関連性は SETD1A の細胞周期依存的な作用を示唆する。FUCCI-tag を使って、細胞周期の G1/S 期もしくは G2/M 期にて特異的に SETD1A 蛋白を細胞周期依存的に発現させたところ、G1/S 期特異的な発現により SETD1A 欠損細胞で低下した遺伝子発現と細胞増殖が回復した。一方で G2/M 期の発現は増殖に影響しなかった。

SETD1A 欠損細胞では S 期で重要となる相同組換え修復や複製フォークの保護にも機能するファンコニ貧血関連遺伝子群の発現減少や機能低下が認められる。今回私たちは SETD1A の新規結合因子や、機能的にも S 期の進行に重要となることを証明した。有糸分裂制御因子 BuGZ/BUB3 は SETD1A を介した転写制御に関わり、この蛋白複合体が細胞周期依存的な遺伝子発現制御と白血病細胞の増殖に必須の役割を持つことが明らかとなった (図 3)。

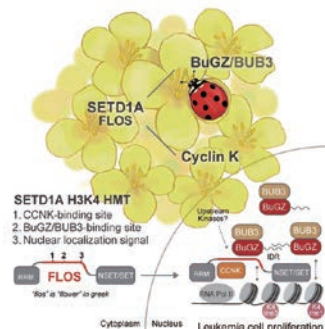


図 3 SETD1A を介した BuGZ/BUB3 の役割



# 減数分裂の開始と細胞周期のS期進行を同調させる雌性生殖細胞に特異的なメカニズム

島田 龍輝, 石黒 啓一郎 (熊本大学発生医学研究所)

Ryuki Shimada, Yuzuru Kato, Naoki Takeda, Sayoko Fujimura, Kei-ichiro Yasunaga, Shingo Usuki, Hitoshi Niwa, Kimi Araki, and Kei-ichiro Ishiguro. STRA8-RB interaction is required for timely entry of meiosis in mouse female germ cells. *Nature Communications* 14, 6443 (2023)

男性の場合、精巣では思春期以降になるとほぼ生涯にわたって減数分裂が繰り返されて精子が産生される。それに対して、女性の場合は胎児の一時期に卵巣の中で減数分裂が開始され、排卵が起こるまでいったん長期の休眠状態に入る。女性の卵巣では胎児期の限定された時期に減数分裂に入ることができた生殖細胞によって、生涯にわたって必要とされる生殖可能な卵子の貯蔵数が決まることになるが、女性に特有の減数分裂開始の仕組みは不明とれていた。

本研究では STRA8 が RB およびパラログ p107 と結合することを見出した。RB は主に E2F1, E2F2, E2F3 との結合により S 期進行を抑制し、p107 は E2F4/E2F5 との結合により G2 期進行を抑制することが知られている。本研究では MEIOSIN との結合は保持したまま、RB および p107 には結合できない変異型 STRA8 (Stra8<sup>delRB</sup>) を発現するノックインマウスを作製した。Stra8<sup>delRB</sup> マウスはオスの減数分裂は正常であったが、メス特異的に不妊になることが判明した。次に減

数分裂開始のタイミングにおけるメス生殖細胞の scRNA-seq 解析を行った。その結果、Stra8<sup>delRB</sup> マウスの STRA8 陽性細胞では S 期への移行と減数分裂の開始に遅延があることが判明した (図 1)。このたった 1 日程度の遅延ではあるが、Stra8<sup>delRB</sup> 生殖細胞は減数分裂にエントリーしても、出生前後には死滅してしまうことが示された。

通常の細胞周期において RB ファミリーは転写因子 E2F を抑制するが、RB がリン酸化されると脱離して S 期関連遺伝子の発現が脱抑制される。STRA8 は E2F から RB を奪うことによって S 期関連遺伝子の転写を脱抑制していると推測され、RB を失活へと導く癌ウイルス蛋白質 HPV E7, SV40 large T 抗原などと似たメカニズムを利用している (図 2)。これらの結果からメス生殖細胞では、STRA8-RB 相互作用が細胞周期 S 期への移行と減数分裂プログラムのインストールとを協調する役割があることが示唆された。

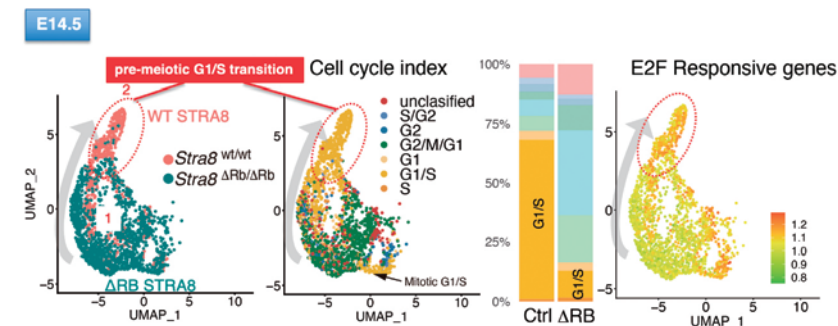


図 1

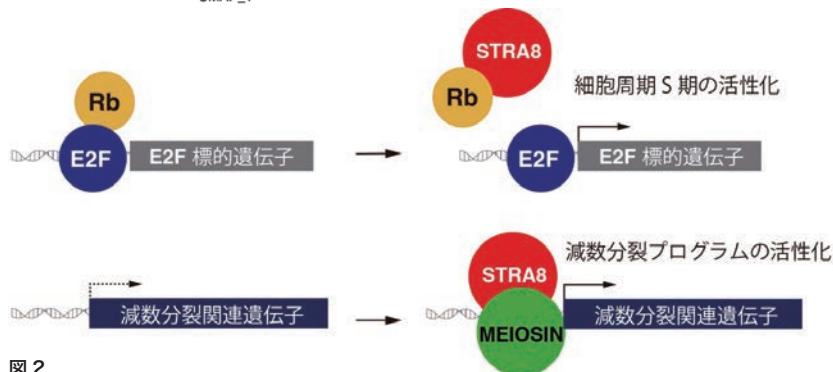


図 2

# 脳の加齢に伴ってニューロン核のダイナミクスが低下する

—ニューロンの核は老化するとシワシワになり、かたくなる—

岸 雄介(東京大学定量生命科学研究所)

Frey T, Murakami T, Maki K, Kawauue T, Tani N, Sugai A, Nakazawa N, Ishiguro KI, Adachi T, Kengaku M, Ohki K, Gotoh Y, **Kishi Y**. : Age-associated reduction of nuclear shape dynamics in excitatory neurons of the visual cortex. *Aging Cell*. e13925. (2023)

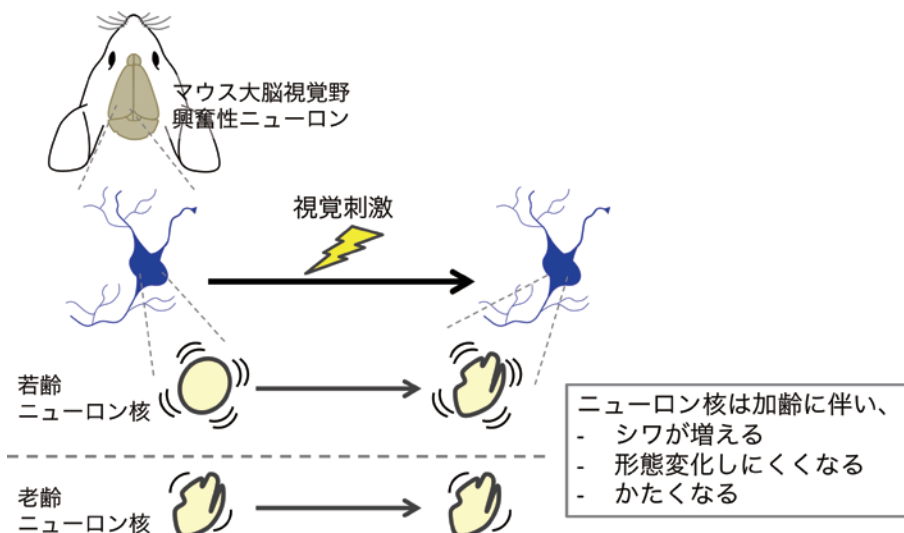
ニューロンは脳の中で情報伝達を中心的に担う細胞で、様々な外界からの刺激に応じてその性質を変化させる。そのニューロン可塑性は、加齢とともに低下し、そのために老化した脳は機能が低下する。老化の過程では、様々な種類の細胞において、核の形態がいびつになることがわかってきており、現在では核の形態を指標に細胞の老化具合を評価するような研究も進んでいる。一方で、自然老化の過程で核の形態が変化するかどうかは不明であった。

本研究ではまず、外界から刺激を受けたときのニューロンの核の形態変化の過程を、生体脳タイムラプスイメージング手法にて観察することを目指した。ニューロンにおいて核の形態を可視化できるマウス (*Nes-Cre<sup>+/+</sup>;SUN1-GFP<sup>+/+</sup>*) を作製し、マウスの眼に光を当てることでニューロンの生理的な刺激した上で、大脳皮質視覚野のニューロンを二光子顕微鏡にて観察した。その結果、およそ2ヶ月齢の若齢マウスでは光照射後10分程度で核が徐々にへこんでいくことがわかったが、老齢マウスではそもそも刺激を行う前からへこんだ核が多いこと、そして光照射を行っても核の形態がほとんど変化しないことが明らかと

なった。この結果から、ニューロンでも加齢に伴って核がいびつな形となり、さらに形態変化がしにくくなることが明らかとなった。

次に私たちは、老化したニューロン核は形態変化しにくくなる原因の一つとして核がかたくなっているのではないかと考えた。そこで原子間力顕微鏡を用いて、若齢マウスあるいは老齢マウスから抽出したニューロンの核のかたさを測定したところ、ニューロンの核は加齢に伴ってかたくなることがわかった。以上の結果から、ニューロンの核は加齢に伴ってダイナミクスが低下する(形態が変化しにくく、かたい)ということがわかった。

ニューロン可塑性には、外界からの刺激に対して適切に遺伝子発現を変化させることが重要である。遺伝子発現の調節にはクロマチン相互作用がフレキシブルに変化することが重要だが、かたくなった核ではそれが適切にできなくなっている可能性がある。今後は、核のダイナミクス低下の重要性を明らかにすることで、脳の老化のメカニズムをさらに明らかにしたい。本研究は石黒班との領域内共同研究で実施された。



# 長年見過ごされてきたCENP-Cの 真の機能の解明

深川 竜郎(大阪大学大学院生命機能研究科)

Masatoshi Hara, Mariko Ariyoshi, Tomoki Sano, Ryu-Suke Nozawa, Soya Shinkai, Shuichi Onami, Isabelle Jansen, Toru Hirota and **Tatsuo Fukagawa**  
"Centromere/kinetochore is assembled through CENP-C oligomerization" *Mol Cell* 83:2188-2205.e13 (2023)

細胞分裂に伴い、正確な染色体分配の遂行のために重要な役割を担うのが、動原体(キネトコア)である。キネトコアは、染色体上のセントロメア領域に形成されるタンパク質複合体であり、紡錘体微小管と結合して染色体分配の足場としてはたらく。そのため、キネトコア複合体がどのようにつくられ、機能するかを理解することは、「遺伝情報がいかにして正確に次世代へと伝わるのか?」という、生物学の根本的な問題を解明するために必須の課題である。

キネトコアを構成するタンパク質群のなかで、CCANと呼ばれる複合体は、キネトコア構造の土台を構築し、脊椎動物のCCANは、今回研究対象としたCENP-Cを含む16種類のタンパク質により形成されている。近年、CCANタンパク質複合体の構造が、クライオ電子顕微鏡によって解析されているが、その構造中にはCENP-Cは、ほんの一部しか含まれていない。いっぽうで、CENP-CはさまざまなCCAN構成タンパク質と結合することが知られ、キネトコア形成のハブと考えられている。すなわち、CENP-Cタンパク質の構造や機能が、CCAN構造を理解するために必要な“最後の謎”として残されていた。そこで、我々は、「CENP-Cの真の機能は何か?」という長年の謎を解き明かすことを目指した。

はじめに、CENP-Cタンパク質の機能を明らかにするために、遺伝子改変が容易なニワトリDT40細胞をモデル系として、CENP-Cのどの部分が重要であるかを調べた。その結果、CENP-Cタンパク質の中央にある領域(中央領域)と、右端のカルボキシ末端領域との二つの領域が、CENP-Cの機能に必須であることが明らかとなった(図1)。

CENP-Cの中央領域は、他のCCANタンパク質との結合に必要なことが知られていたが、C末領域はCupinドメインとよばれる特徴的な領域を含んでいるものの、その役割は不明だった。そこで、このC末領域の機能を明らかにするために、この領域を試験管内で精製し、その立体構造をX線結晶構造解析により決定した。その結果、C末領域はCupinドメインを介した二量体構造を基本にして、それがさらに集まって多量体化することを見出した(図1)。このCENP-Cの多量体化は、ニワトリ

CENP-Cだけでなく、ヒトCENP-Cでも同じように起きていた。

つぎに、CENP-Cの多量体化の重要性を調べるために、多量体化が起きないような変異型CENP-Cを設計して細胞内に発現させた。その結果、多量体化しないCENP-Cは正常に機能せず、キネトコアは正常に形成されなかった(図2)。以上のことから、CENP-Cの多量体化は、キネトコアをセントロメア上に正しくつくるために、重要であることが明らかとなった。さらに、CENP-Cの多量体化は、キネトコアの形成だけでなく、セントロメア領域の特殊なクロマチン形成に必須であることも明らかになった(図1,2)。

以上のことから、CENP-Cの真の機能は、「自身を集め、多量体化することで、セントロメア上に安定にキネトコア構築するとともに、セントロメアの特殊なクロマチン構造を形成すること」が明らかとなった。これらの成果は、キネトコア構造の理解のための長年の謎を解く、重要な成果と言える。

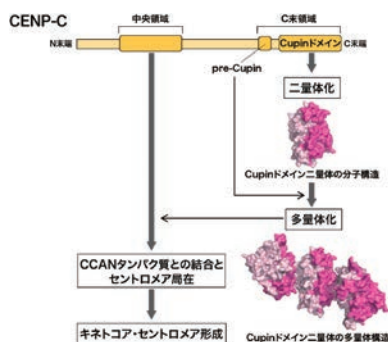


図1 CENP-C Cupinドメインの多量体化とその機能

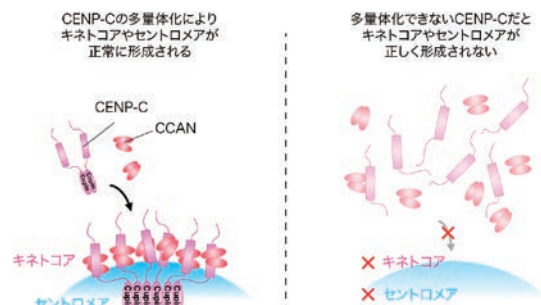


図2 Cupinドメインを介したCENP-C多量体化はキネトコア・セントロメア形成に必須である



# 非定型ICF症候群患者における UHRF1 の複合ヘテロ接合性変異

鵜木 元香 (東京大学大学院・医学系研究科)

Unoki M, Velasco G, Kori S, Arita K, Daigaku Y, Au Yeung WK, Fujimoto A, Ohashi H, Kubota T, Miyake K, Sasaki H. Novel compound heterozygous mutations in UHRF1 are associated with atypical immunodeficiency, centromeric instability, and facial anomalies syndrome with distinctive genome-wide DNA hypomethylation. *Human Molecular Genetics* 32:1439-1456 (2023)

Immunodeficiency centromeric instability facial anomalies (ICF) 症候群は先天性の免疫不全疾患で、ほとんどの患者は、*DNMT3B*、*ZBTB24*、*CDCA7*、*HELLS* のいずれかの遺伝子に変異を有しているが、原因不明の患者が数名いる。今回私たちは、このような患者のうち、免疫不全を呈さない非定型患者1名が、*UHRF1* 遺伝子に、複合ヘテロ接合性変異 (R296W と R618X) を有している事を見出した。*UHRF1* (別名 ICBP90) は 2004 年に私が DNA メチル化を認識する新規蛋白質として同定して以来 (Unoki et al, *Oncogene*, 2004)、本新学術グループのメンバーである古関先生、有田先生、中西班の西山先生らによって詳細な機能が解明されてきた維持 DNA メチル化に必須の蛋白質である。これまでヒトにおける *UHRF1* の変異の報告は、マルチローカスインプリンティング異常症の1症例のみであったが、変異と疾患の因果関係は不明であり、本論文が、*UHRF1* の変異が機能や表現型に及ぼす影響まで詳細に調べた初の報告となる。今回同定した R618X 変異は、*UHRF1* の SRA と RING ドメイン間のリンカー領域に位置し、患者細胞ではこの変異を有する *UHRF1* 蛋白質の発現が検出できなかった事から、当該変異はナンセンス変異依存 mRNA 分解を引き起こすと考えられた。R296W 変異はタンDEM Tudor ドメイン (TTD) とプラントホメオドメイン (PHD) 間のリンカー領域に位置しており、生化学的解析の結果、当該変異は、*UHRF1* とヒストン H3 の結合比を 1:1 から 1:2 へと変化させ、また *LIG1* との結合親和性を強める事がわかった。加えて、R296W 変異は *UHRF1* のヒストン H3 及び *PAF15* に対するユビキチン化活性を低下させる事がわかったが、TTD-PHD 間のリンカーにある変異がどのような構造変化を引き起こして RING の酵素活性に影響するのかわからない、今後の課題である。ゲノムワイドな DNA メチル化解析の結果、当該患者は ICF 症候群の主徴であるセントロメア・ペリセントロメア反復配列の低メチル化を有していたが、この患者は、他の遺伝子に変異を持つ ICF 患者 (1~4 型) とは異なる特徴的な低メチル化パターンを有する事がわかった。私たちは、この患者のモデル細胞株を樹立し、R296W 変異がペリセントロメア反復

配列の低メチル化を引き起こす事を確認し、この変異が hypomorphic な変異である事を証明した。*UHRF1* と *LIG1*、*PAF15*、ヒストン H3 との適切な相互作用は維持 DNA メチル化のプロセスに必須であるため、R296W 変異は当該プロセスの効率を低下させると考えられた。さらに R296W 変異は *UHRF1* と de novo DNA メチル化酵素である *DNMT3B* との結合親和性を弱めた事から、発生過程における de novo DNA メチル化にも影響する可能性が示唆された。末筆ながら、当該患者は、私が *UHRF1* を同定した 2004 年に、原因不明の ICF 症例として報告された患者である (Kubota et al., *Am J Med Genet.*, 2004)。20 年近くの時を経て、ある日私は当時同定されていなかった *CDCA7* や *HELLS* の当該患者細胞における発現が気になって Western blotting を行ったのだが、ふとした気まぐれで、2004 年当時から愛用していた BD 社の *UHRF1* 抗体を内部コントロールとして用いたのである。そうしたところ、たまたまその抗体の抗原認識部位に R296 が含まれており、患者細胞で *UHRF1* が全く検出されなかった事が、今回の発見へとつながった。その時の驚きと感動は忘れがたく、本新学術領域が支えてくれた、私と *UHRF1* と *UHRF1* に魅せられた方々との不思議なご縁に感謝したい。

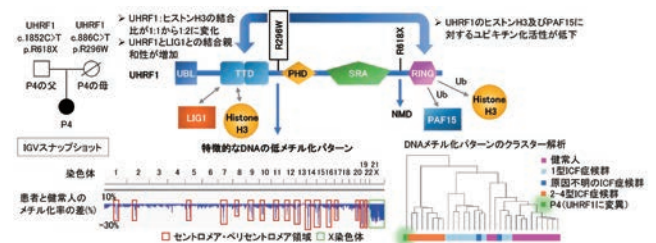


図 非定型 ICF 症候群患者 (P4) で見つかった *UHRF1* の複合ヘテロ接合性変異 (R296W と R618X) と *UHRF1* の機能への影響。R618X はナンセンス変異依存 mRNA 分解 (NMD) をおそらく引き起こすため、患者由来細胞では R296W 変異を有する *UHRF1* のみが検出された。R296W 変異は *UHRF1* のタンDEM Tudor ドメイン (TTD) とプラントホメオドメイン (PHD) をつなぐリンカー領域に位置し、*UHRF1* のヒストン H3 との結合比を変化させ、*LIG1* との結合親和性を増加させた。また、R296W 変異は *UHRF1* の RING ドメインのユビキチン化活性を低下させた。当該患者は、他の遺伝子に変異を持つ ICF 患者とは異なる特徴的な DNA の低メチル化パターンを示した。



# マウスとヒトに共通してZSCAN4は マイクロサテライトに結合する

秋山 智彦(横浜市立大学医学部)

**Tomohiko Akiyama**, Kei-ichiro Ishiguro, Nana Chikazawa, Shigeru B H Ko, Masashi Yukawa, Minoru S H Ko. ZSCAN4-binding motif—TGCACAC is conserved and enriched in CA/TG microsatellites in both mouse and human genomes. *DNA Research*. 31(1) dsad029 (2024)

DNA 結合ドメイン Zinc finger を持つ ZSCAN4 は、多能性幹細胞、配偶子、および初期胚において一過的に発現され、マウス胚性幹 (ES) 細胞のテロメア伸長に関わることや、ゲノムの安定性を高めて核型を改善することが知られている。哺乳類に広く保存された遺伝子ではあるが、マウスでの機能が明らかになりつつある反面、ヒトにおける機能解析はほとんど進んでおらず、種間で共通する機能を有するかどうかについては不明であった。

今回発表した論文では、ZSCAN4 の保存された機能およびその制御メカニズムを明らかにするためにマウスおよびヒトゲノムにおける ZSCAN4 結合領域の網羅的な解析を行った。これまでの過剰発現させたタグ付きタンパク質を標的とする研究が主であったが、本研究では、新規に特異的抗体を作製し、ZSCAN4 の発現頻度を高めた ES 細胞を用いて dual-crosslink ChIP-seq 解析を行った。その結果、内在性 ZSCAN4 のゲノムワイドな結合領域を高感度に検出することに成功し、マウスでは 4825 箇所、ヒトでは 18770 箇所の ZSCAN4 結合サイトを同定することができた。遺伝子発現やテロメア制御に関連する領域への結合を

予想していたが、ほとんどの ZSCAN4 はそれとは無関係に CA/TG マイクロサテライトリピートに位置する TGCACAC モチーフに結合することが明らかとなった。この結果はマウスとヒト両方で共通しており、マイクロサテライト内に複数コピーのモチーフ配列を持つことが特徴である (図 1)。

これらの結合領域は、二本鎖 DNA 切断や変異を誘発する Z 型 DNA と呼ばれる不安定な構造を形成することが知られている。ZSCAN4 の発現誘導により、今回同定した ZSCAN4 結合領域におけるクロマチン構造が抑制化されることを見出した。また、ZSCAN4 結合マイクロサテライトは、ゲノムの遺伝子間領域およびイントロン領域の非シンテニー領域に位置し、ヒトとマウスでは共通するポジションにはないことも明らかとなった。これらは遺伝子発現調節とは異なるゲノム抑制機構を示唆している。ES 細胞の ZSCAN4 をノックアウトしても胚性遺伝子活性には影響しないことから ZSCAN4 は転写因子ではなく、マイクロサテライト DNA に結合するゲノム安定化因子であると考えられる。

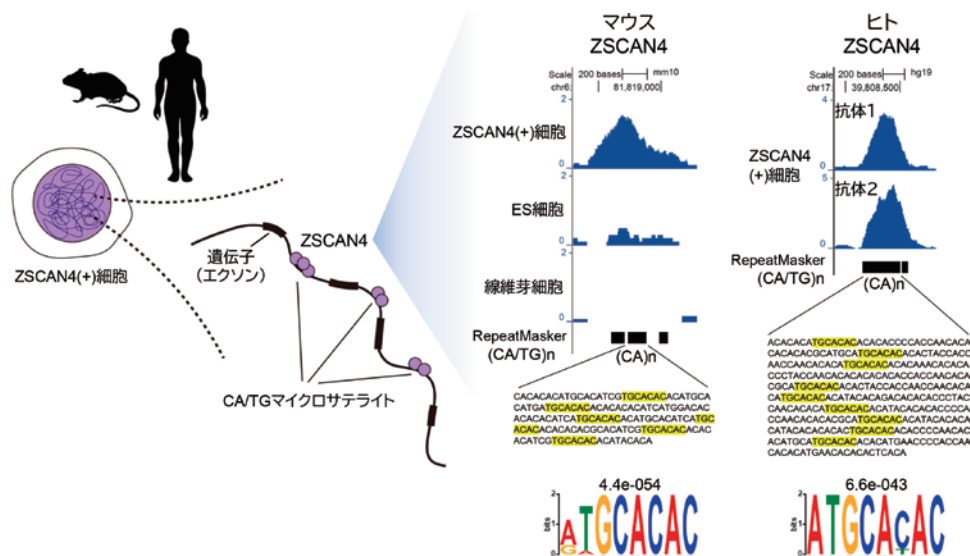
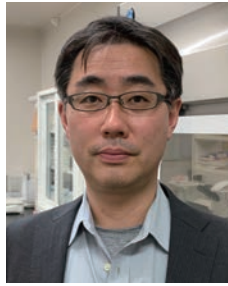


図1 マウスとヒトにおいて ZSCAN4 の結合モチーフは CA/TG マイクロサテライトに存在する。ヒトでは動物種の異なる 2 つの抗体を作製して同様の結果が得られた。

## 研究者を続けることの「僥倖」



石黒 啓一郎 (熊本大学発生医学研究所)

### 1. 「職業としての学問」

私は、ポスドク、助教、講師のいわゆる任期付き研究職を長年経験して参りました。そして今もなお、タイミング良く職や研究費を得て研究を継続していくことの難しさを強く認識しております。まさにドイツの社会学者マックス・ウェーバーの著書「職業としての学問（訳：岩波文庫）」に出てくる一節が思い起こされます。ちょうど私が学部学生1年だったときに教養の社会学の講義でたまたま使われていた内容で、それほど分量のある本ではないのですが、その一節が私の研究者としての生き方に少なからず影響したと思います。

それによると、「若い学者にとって職業としての学問は就職および昇進において「僥倖」に支配されている。……」「僥倖」？

漢文???、見たこともない漢字で読み方も知りませんでした。ぎょうこうとよぶことを知りました。そこでは、当時の大学制度において、職を得ることは思いもかけぬ偶然によって支えられていること、また同僚の就職や昇進をよそ目に己の精神を如何にコントロールし学問に没頭できるかが、職業としての学問を続ける上での資質であると説いています。今から100年も前に記されたものですが、奇しくもこれまでの自分を取り巻く境遇と相重なるものを感じるのです。

### 2. 研究職を続けさせてもらうことの「僥倖」

坂野仁教授のラボで免疫グロブリン遺伝子のVDJ組換え酵素の研究で博士を取得後、米国 Dana-Farber cancer institute・中谷喜洋教授のラボで5年間ポスドクとしてクロマチンの研究をしていました。日本に帰国後は東大・分生研・渡邊嘉典教授のラボで学振研究員3年を経て、30半ばを超えた頃にはじめて大学の正規の助教職に就くことができました。そこは分裂酵母の染色体研究をメインとするラボでしたが、私はマウスで減数分裂の研究を始めるきっかけとなりました。分裂酵母のラボのため一切のマウス研究用のリソースはなく、お隣の後藤由季子先生のラボのネズミ部屋の一角ラックをお借りして、ド素人レベルからはじめてマウスを使う研究を始めました。

5年ごとの再任のある職でしたが、4年

目にさしかかったある日上司の教授より私は再任しないので外で職を探せと宣告されました。たぶん生え抜きの優秀な大学院生のためにポストをあけてラボを循環していくための運営上の配慮だとは思いますが、そこからアラフォーの年齢にさしかかった私にとって苦難のジョブ探しの始まりでした。いろいろと応募しまくるも、どこからもインタビューに呼ばれることなく、悶々とした日々を送っていました。そして、とうとう任期の期限が迫ってきてどうしようもなくなり、慶應大の洪実教授にポスドクで拾ってもらったことになったのです。助教からポスドクになったので、CV上はどうみても降格です。洪ラボに通い始めた頃は、他の多くのメンバーより年齢も上であったので、助教をやめて(させられて?)よそから入ってきた人くらいの視線で周りから少し浮いた感じもあったと思います。あの当時は正直、「研究者終わった」と思いました。同世代の元同僚や仲間には既にPIに昇進するのもいたので、「職業としての学問」で説かれているあの一節は、当時の私にとっては都合の良い言葉のように思えたものです。しかし、見方を変えると幸いにも研究を続けさせてもらえる「僥倖」を得たのだと思います。

それまで私は、クロマチン・染色体構造などのガチガチのメカニシクな研究をしてきましたが、洪ラボでは初期胚やESなどの発生生物学にはじめて触れるきっかけとなりました。当時洪ラボには秋山智彦先生(非ゲノム情報公募班)が助教としておられて、同僚として研究では様々なご指導を頂きました。またES細胞のスーパースターの丹羽仁史先生の論文を読んだり講演を聴く機会もあり、その後まさか熊本大学発生研でご一緒することは当時予想だにしていませんでした。洪ラボに在籍したのは2年半でしたが、この時に発生生物学に触れたことがきっかけで、その後の私の研究の方向性に大きな変化と「僥倖」をもたらしたのは間違いのないと思います。

### 3. 激レアな発見

始原生殖細胞は潜在的多能性と呼ばれるように、ES細胞などの多能性幹細胞に近い遺伝子発現プロファイルを示すことが

わかっています。実際に Oct4, Sox2, Klf4 などの多能性因子が高発現していることや、始原生殖細胞からEG細胞という多能性幹細胞を樹立することができることから、始原生殖細胞とES細胞は性質が似ています。その頃、私にも生殖細胞の発生について知識がついてきて、「生殖細胞が体細胞分裂から減数分裂にどうやって切り替わるのか?」という疑問を持つようになりました。ES細胞はたまたま弱ながらも減数分裂に関連する遺伝子が一過性に発現する性質があります。またES細胞にレチノイン酸で刺激を与えると STRA8 (Stimulated by Retinoic Acid 8) という遺伝子が活性化されるということを古い文献で知りました。この STRA8 の文献を紐解くと、1995年に Pier Chambon らによってレチノイン酸によって誘導される因子として発見され、生殖細胞でも減数分裂に入る前に一過的に STRA8 が発現することがわかっていました。しかし、当時はその分子機能を予測できるようなドメインがよくわからないため長年正体不明とされていることを知ったのです。減数分裂の開始のメカニズムは世界的にどの生物種でもやられていないことに気がつきました。こんな fundamental な問題が未だにわかっていないのは不思議でしたが、体細胞分裂している生殖細胞が勝手に減数分裂にエントリーするわけがなく、そこには必ずトリガーするメカニズムがあるはずだと思って、ここに切り込もうと考えるようになりました。

洪ラボで、STRA8 遺伝子座に GFP レポーターをノックインさせた ES 細胞を作った、GFP 陽性 ES 細胞から STRA8 に結合するタンパクを同定することを試みました。この試みは ES 細胞ではまったく情報が得られず、うまく行きませんでした。

そうしているうちに、これぞまさに「僥倖」というタイミングで運良く 2016 年に熊本大学発生研で PI として採用してもらえることとなりました。そこで、はじめて取り組んだのは、慶應で作った STRA8 遺伝子座に GFP ノックインした ES 細胞が手元にあったのでキメラマウスを作ることでした。このマウスラインの精巣をたくさん集めて、精巣核抽出液から STRA8 を精製してこれに結合する因子をマススペクトルで同定する研究を始めたのです。銀染色で SDS-PAGE ゲルを見ると STRA8 とほぼ stoichiometric に結合してくるタンパク質を見つけました。マススペクトルから、Gm4969 という hypothetical 遺伝子にコードされるタンパク質であることがわかりました。この新規タンパク質を MEIOSIN と命名して、これが減数分裂の開始を担う転写活性化因子であることがわかりました。

後になってわかったことであるが、Gm4969 遺伝子は当時ゲノムデータベース

ス上のアノテーションが正確でなく、GTF fileにも遺伝子のリストとして入っていませんでした。したがって、世界中の研究者がこぞって生殖細胞のRNA-seqをやっていたはずだが、RNA-seqデータをもっている、リードの張り付く先の情報が欠落している、誰もこの遺伝子に気がつかなかったのだと思われます。一方、私はマスマスペクトルデータからペプチド断片の情報を手にしていたので、間違いなく得体の知れないタンパクが精母細胞で発現していると確信しました。今の時代にしてこのような経緯で新規遺伝子が見つかるのは激レアだと思いますが、この状況が幸いして、まさにその後の私の研究の方向性を決定付ける「僥倖」であったと思われます。

#### 4. 「非ゲノム情報複製」班に参画できた「僥倖」

PIとしてラボ運営を始めた頃は、資金獲得と研究推進との狭間で苦労が尽きませんでした。はじめは冷蔵庫、冷凍庫、ゲル撮影装置だけのクリーンベンチだの、ピペットマンやら電気泳動装置やら細々とした最低限のものを揃えていくうちに、いつのまにか研究費を消耗していることに気がつきました。しかし、マウスの飼育経費や実験を進める上で最低限の経費を如何にしてキープするかが課題で、大腸菌で作らせたリコンビナント Taq ポリメラーゼを精製してきて、ホルムアルデヒドで軽く固定して hot start 仕様にしたのを使ってマウス genotyping をしたり、チューブを洗って再利用したりなど、節約を徹底してもなお資金繰りが足りる状況ではなく、研究員を雇用することも

できないままの時期が続きました。そんな状況の中、ちょうど独立して2年目くらいのタイミングの時に、お声を頂いてこの新学術領域に参画する機会を得たことはこの上ない「僥倖」であったと思います。

そうして新学術領域「非ゲノム情報複製」も5年が経過して終わりを迎えることとなりました。本領域で得たものは研究費ばかりではなく、先生方との交流から得られた研究者ネットワークとの繋がりが大きかったと思います。本領域で様々なサポートを頂き研究を楽しめたことは、「僥倖」というべき貴重な機会でした。今思えば、「僥倖」をただ待っていたのではなく、「僥倖」を追い求めてもがいてきたように思います。最後に、5年間お付き合いいただきまして、この場を持って皆様に御礼を申し上げたいと思います。

## Report 活動報告

### 第23回日本蛋白質科学会年會を共催

2023年7月5日～7日

名古屋国際会議場で開かれた第23回日本蛋白質科学会年會でワークショップ「クロマチン修飾の分子機構解明・技術開発・その応用」を共催しました（オーガナイザー：有田）。

### 日本遺伝学会 第95回大會を共催

2023年9月6日～8日

くまもと県民交流館パレアで開かれた日本遺伝学会 第95回大會（大會副會長：石黒）で、シンポジウム「非ゲノム情報複製機構による生命現象の制御」を共催し、班員の石黒、藤、横林が講演しました（オーガナイザー：石黒）。



### 第41回染色体ワークショップ・第22回核ダイナミクス研究會を共催

2024年1月29日～31日

天成園小田原駅別館（小田原）で開かれた第41回染色体ワークショップ・第22回核ダイナミクス研究會（世話人：岸）を共催し、班員の石黒、西山が講演しました。また来年度の第42回染色体ワークショップ・第23回核ダイナミクス研究會世話人は石黒が務めることとなりました。



## Awards / Human Resources 受賞・人事

若手の  
受賞

**2023.07**

2023年7月5日(水)～7日(金)に名古屋国際会議場で開かれた第23回日本蛋白質科学会年会で有田班の菊地杏美香さんがポスター賞を受賞されました。

若手の  
受賞

**2023.09**

2023年9月6日(水)～8日(金)にくまもと県民交流館パレアで開かれた日本遺伝学会 第95回大会で石黒班の島田龍輝さんが Best Papers 賞を受賞されました。受賞演題は「メス特異的な減数分裂と細胞周期制御機構」です。

若手の  
受賞

**2023.12**

2023年12月6日(水)～8日(金)に神戸ポートアイランドで開かれた第46回分子生物学会年会で有田班の敷町怜愛さん(大学院生)がMBSJ2023サイエンスピッチ優秀発表賞を受賞されました。受賞演題は、「異なるデザインのリソソームに対するUHRF1の相互作用様式の検証」です。

若手の  
受賞

**2023.12**

2023年12月6日(水)～8日(金)に神戸ポートアイランドで開かれた第46回分子生物学会年会で鐘巻班のMoutushi Islamさん(大学院生)さんがEMBO Poster Clinic 賞を受賞されました。受賞演題は、「Targeted protein degradation with a single-chain antibody-based AID2 system」です。

若手の  
受賞

**2024.01**

2024年1月29日(月)～31日(水)に小田原で開かれた第41回染色体ワークショップ・第22回核ダイナミクス研究会で分子細胞工学研究室のD4 鳩山雄基さんが学生優秀ポスター発表賞を受賞されました。

新学術領域研究

「多様かつ堅牢な細胞形質を支える非ゲノム情報複製機構」

# RNG Newsletter

第9号 2024年3月発行

編集人 石黒 啓一郎

発行人 中西 真

発行所 非ゲノム情報複製ニュースレター編集室

東京大学医科学研究所

癌・細胞増殖部門 癌防御シグナル分野

〒108-8639 東京都港区白金台461

TEL 03 5449 5341

E-mail mkt naka@ims.u.tokyo.ac.jp

印刷所 株式会社トライス

<https://non-genome.com>