

2018年9月14日

報道関係者各位

慶應義塾大学医学部

ゲノム編集でDNA三次元構造の形成機構解明 —革新的なエンハンサー制御による新たな遺伝子操作技術へ道筋—

慶應義塾大学医学部・大学院医学研究科iPS細胞エピジェネティクス研究医学寄附講座の菱川慶一特任准教授、生理学教室の辻村太郎特任助教らは、最先端のゲノム編集技術を用いて、CTCF（注1）と呼ばれるタンパク質が、ゲノムDNAへのある特定の結合パターンに従って、DNAの三次元構造を多層的に制御する機構を詳細に解明しました。

この知見を発展させることで、ゲノムDNAの三次元構造および遺伝子の機能を操作する全く新しい遺伝子機能操作技術開発が可能となり、再生医療、医薬品開発、癌治療のみならず、その応用性は多岐にわたると考えられます。

本研究成果は、エピジェネティクス研究の国際雑誌「Epigenetics & Chromatin」に2018年9月14日（日本時間）に掲載されました。

1. 研究の背景

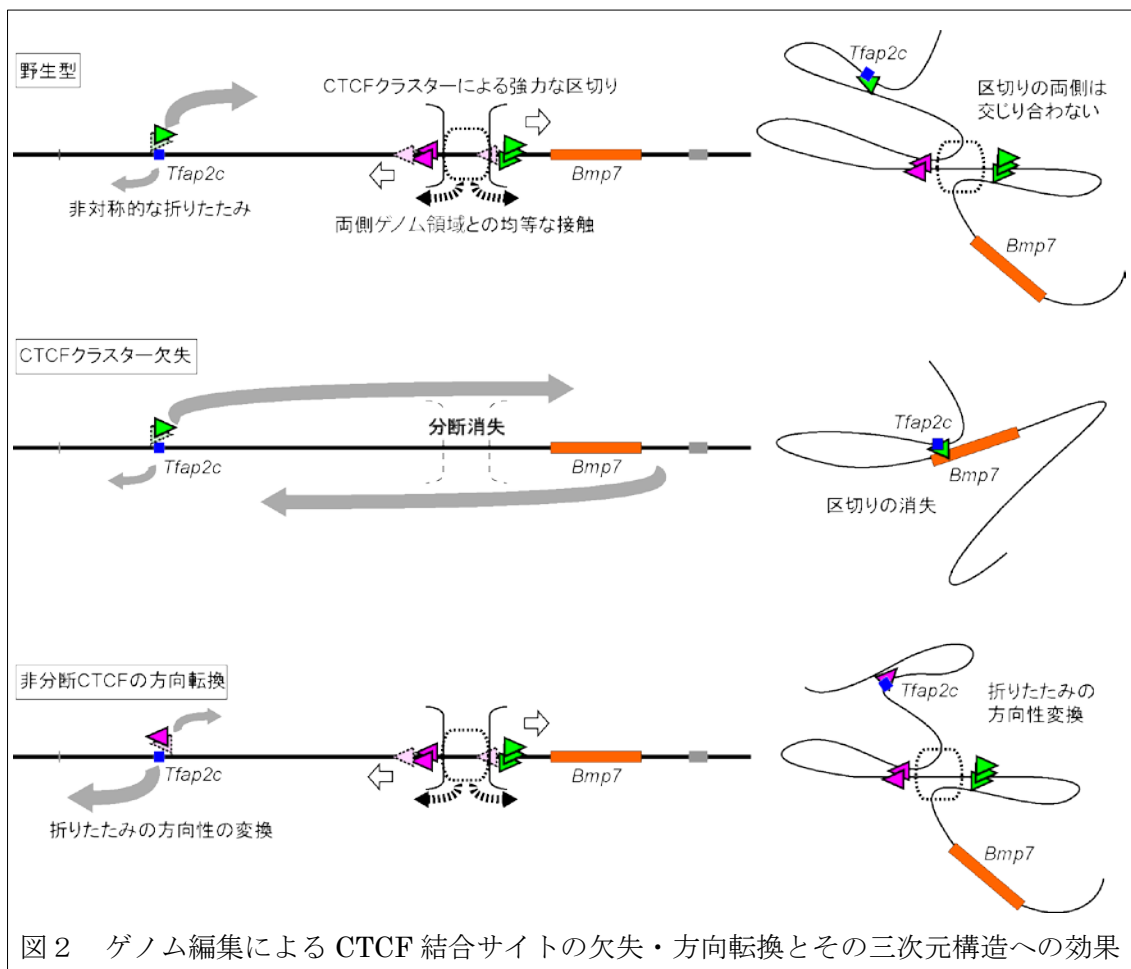
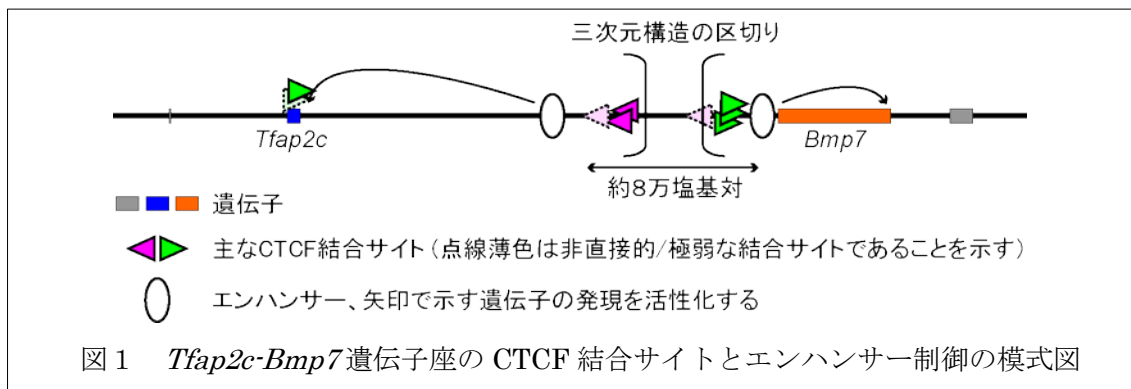
ゲノムプロジェクトの完了によりゲノムDNAの配列は解明されたものの、ゲノム上の約2万5000の遺伝子個々の制御機構には依然として不明の点が多く残されています。例えば、腎臓で働く遺伝子と脳で働く遺伝子が隣り合って存在しても、それぞれの遺伝子は各臓器でのみ働き、腎臓に脳細胞が発生するようなことは決してありません。個々の遺伝子が個々の細胞で特異的に機能するのは、細胞種特異的に働く「エンハンサー」と呼ばれる遺伝子制御DNA領域の活性で発現が制御されているからです。しかし、あるエンハンサーが近傍の遺伝子を活性化するとき、なぜそれに隣接するもう1つ別の遺伝子を活性化することはないのか、そのメカニズムはまだよくわかっていません。

これについては、最近の研究で、遺伝子とエンハンサーとの三次元的位置関係が重要であること、特にCTCFというタンパク質の結合がゲノムDNAの三次元構造の区切りに関わることが明らかとなりました。しかし、ゲノムDNAの三次元構造の区切りに関与しないCTCF結合サイトもゲノム中には多く見られるなど、個々のゲノム領域における実態には不明な点が多くありました。

2. 研究の成果と意義・今後の展開

本研究ではマウスES細胞を用い、隣接する2つの遺伝子 *Tfap2c* と *Bmp7* より成るDNA領域において網羅的なゲノム編集と三次元構造解析を繰り返し、ゲノムDNAの三次元構造とエン

ハンサーの機能がどのように規定されるのかを次世代シーケンサーを用いて詳細に解析しました。その結果、2つの遺伝子の間には約8万塩基対という広い領域にわたって複数のCTCF結合サイトが存在し（図1：三角印）、このCTCF結合サイトがゲノムDNAの三次元構造に区切りを入れることにより、エンハンサーが標的の遺伝子のみ作用することがゲノム編集によるCTCFクラスター欠失により明らかとなりました（図2：CTCFクラスター欠失）。興味深いことに、この8万塩基対のゲノムの区切りは、区切られた両遺伝子周辺のゲノムDNA領域と三次元的には均等に近い距離に位置していました（図2：野生型の点線矢印）。そして、この区切り領域の内部には生物種間でよく保存され、何らかの機能を有すると考えられるDNA配列が多く含まれることから、従来考えられていた「区切り」としての機能以外に、ゲノム情報を統括する未知の機能を持つと推察されました。



さらに、ゲノムDNAの三次元構造の区切りに関与しない*Tfap2c*遺伝子周辺のCTCF結合にも着目し、解析を進めました。まず、こうした部位におけるCTCF結合は弱く（点線三角）、単独に近い形で存在するために、区切りとしての作用が弱くなっているものと考えられました。一方、ゲノム編集によりCTCF結合の方向を変えることにより（図2：非分断CTCFの方向転換 三角矢印の向きを野生型と比べて左右転換）、区切りとして弱い作用しか持たないCTCF結合でも、周辺のゲノムDNA領域の三次元的折りたたみの方向性を決定することを突き止めました（灰色矢印の向きと太さはゲノムの折りたたみ方向と標的遺伝子からの距離を示し、野生型とは正反対のパターンとなっている）。以上より、ゲノムDNAへの特異的なCTCF結合パターンにより、DNAの三次元構造が多層的に制御されていて、それによりエンハンサーの活性も緻密に制御されているという実態が明らかとなりました。

研究チームでは、本研究の知見を発展させて、エンハンサーの標的を操作する技術の開発を進めています。すでに、この革新的技術に関しては慶應義塾大学より特許出願済みです。全ての生命現象は、遺伝子を介して、エンハンサーにより制御されていると言っても過言ではなく、エンハンサーを自在に制御することができるようになれば、新たな生命科学研究の展開や、画期的な遺伝子治療戦略につながると期待されます。

【用語解説】

（注1）CTCFはZinc-Fingerというモチーフを11個持つタンパク質で、ゲノム上の特定の配列のDNAに結合する。コヒーシンという別のタンパク質複合体の作用を介して、CTCFが結合している2つのDNAサイト同士を接触させるという働きがある。

3. 特記事項

本研究は、JSPS 科研費 JP15H03001、JP16K09602、JP17K16072、JP16H06279、公益財団法人武田科学振興財団ビジョナリーリサーチ助成の支援によって行われました。

また、慶應義塾大学医学部・大学院医学研究科 iPS 細胞エピジェネティクス研究医学寄附講座は、アパグループ、株式会社ムトウ、株式会社神戸医療特区内 One Medicine, One Health センター、アルバ・ラボ株式会社、IMS グループのご寄附により運営されています。

4. 論文

英文タイトル：Control of directionality of chromatin folding for the inter- and intra-domain contacts at the *Tfap2c-Bmp7* locus

タイトル和訳：Tfap2c-Bmp7 遺伝子座領域における、ドメイン間およびドメイン内の DNA コンタクトを司る三次元的クロマチンフォールディングの制御機構

著者：辻村太郎、高瀬敦、吉川真弘、佐野悦子、林松彦、高戸毅、豊田敦、岡野栄之、菱川慶一

掲載誌：Epigenetics & Chromatin

※ご取材の際には、事前に下記までご一報くださいますようお願い申し上げます。

※本リリースは文部科学記者会、科学記者会、厚生労働記者会、厚生日比谷クラブ、各社科学部等に送信しております。

【本発表資料のお問い合わせ先】

慶應義塾大学医学部・大学院医学研究科
iPS細胞エピジェネティクス研究医学寄附講座
特任准教授 菱川 慶一（ひしかわ けいいち）
慶應義塾大学医学部 生理学教室
TEL : 03-5363-3747 FAX : 03-3357-5445
E-mail: hishikawa-ky@umin.ac.jp

【本リリースの発信元】

慶應義塾大学
信濃町キャンパス総務課：鈴木・山崎
〒160-8582 東京都新宿区信濃町 35
TEL:03-5363-3611 FAX:03-5363-3612
E-mail : med-koho@adst.keio.ac.jp
<http://www.med.keio.ac.jp/>
※本リリースのカラー版をご希望の方は
上記までご連絡ください。