

## エピゲノムの制御を受けた転写の方程式

### ーエピゲノム異常の影響を反応素過程ごとに理解するー

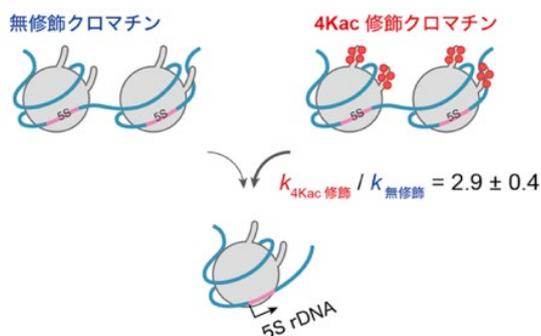
理化学研究所（理研）生命機能科学研究センターエピジェネティクス制御研究チームの梅原崇史チームリーダー、若森昌聡技師、東京大学大学院薬学系研究科の岡部弘基助教、東京工業大学情報理工学院の瀧ノ上正浩准教授、千葉大学大学院理学研究院の浦聖恵教授らの共同研究グループ<sup>\*</sup>は、細胞の機能発揮に関わる「エピゲノム<sup>[1]</sup>」の化学修飾<sup>[2]</sup>が遺伝子の転写<sup>[3]</sup>に与える影響を、反応の素過程に分けて定量化する方程式を導出しました。

本研究成果は、がん細胞などで見られるエピゲノム異常が転写のどの反応素過程に影響するかの理解につながると期待できます。

エピゲノムは、ゲノム DNA 中の遺伝子を RNA に転写する度合いを制御する、ゲノム DNA の可逆的な化学修飾の仕組みです。細胞核に収められたゲノム DNA はクロマチン<sup>[4]</sup>と呼ばれる凝縮した構造をとっており、エピゲノムは転写前にその凝縮を解きほぐすなど、クロマチン構造を変換する複数の反応素過程を制御します。エピゲノムを特徴づけるヒストン<sup>[5]</sup>の化学修飾には複数のパターンがありますが、それらが転写のどの素過程をどの程度制御するのかはよく分かっていませんでした。

今回、共同研究グループは、5S リボソーム DNA (rDNA)<sup>[6]</sup>という短い遺伝子をクロマチンのモデルとして、生化学（作る）・生物物理学（測る）・数理解析（モデル）の異分野融合研究を行い、エピゲノムの制御を受けた転写の素過程ごとの反応速度を求める方程式を導出しました。その結果、今回の実験系では、ヒストン H4<sup>[5]</sup>の N 末端テイルが最も高度にアセチル化された状態<sup>[7]</sup>における転写可能なクロマチンの形成速度は、全くアセチル化されていない状態と比べて 2.9 倍速いことを見いだしました。

本研究は、科学雑誌『*Nucleic Acids Research*』のオンライン版（11月26日付：日本時間11月26日）に掲載されます。



エピゲノム修飾が影響する転写反応素過程の理解

## ※共同研究グループ

理化学研究所 生命機能科学研究センター エピジェネティクス制御研究チーム

チームリーダー 梅原 崇史 (うめはら たかし)

技師 若森 昌聡 (わかもり まさとし)

東京大学 大学院薬学系研究科

助教 岡部 弘基 (おかべ こうき)

教授 船津 高志 (ふなつ たかし)

東京工業大学 情報理工学院 情報工学系

准教授 瀧ノ上 正浩 (たきのうえ まさひろ)

千葉大学 大学院理学研究院

教授 浦 聖恵 (うら きよえ)

## 研究支援

本研究は、科学技術振興機構（JST）戦略的創造研究推進事業さきがけ「細胞機能の構成的な理解と制御（研究総括：上田泰己）」、日本学術振興会（JSPS）科学研究費助成事業基盤研究B「超活性クロマチンの高分解能検出を介した疾患エピゲノム制御機構の理解（研究代表者：梅原崇史）」等による支援を受けて行われました。

## 1. 背景

「エピゲノム」は、ゲノム DNA 中の遺伝子が RNA に転写される度合いを制御する、ゲノム DNA の可逆的な化学修飾の仕組みです。ヒトを含む真核生物の細胞核内では、ゲノム DNA はヒストンタンパク質に巻き付いたヌクレオソーム<sup>[8]</sup>という構造を単位として、たくさんのヌクレオソームがつながった「クロマチン」と呼ばれる凝縮体を作ります。クロマチン中のヒストンと DNA は、ゲノムの場所に依じてさまざまな化学修飾を受け、それらが総体として集積することでエピゲノムが作られます。

エピゲノムを特徴づける代表的な化学修飾は、ヒストンに対するアセチル化です。特に、ヒストンを形成する 4 種類のタンパク質のうち、ヒストン H4 の N 末端テイルのリシン残基がアセチル化を受けると、RNA ポリメラーゼ<sup>[3]</sup>によるクロマチンからの遺伝子の転写が促進されます。この転写の促進は、アセチル化によって転写開始部位付近に位置するヌクレオソームのリモデリングや再配置が促進されることで起こると考えられていますが、そのメカニズムについては不明な点がまだ数多くあります。

細胞内のクロマチンにおいて、ヒストン H4 のアセチル化のパターンには数多くの種類があります。そのうち、N 末端から数えて 5 番目、8 番目、12 番目、16 番目の 4 カ所のリシン残基（1 文字略称は K）が同時にアセチル化された状態（4Kac 修飾）は特に重要で、この 4Kac 修飾は転写が可能なクロマチン領域によく見られます。しかし、クロマチンからの転写は複数の段階的な「反応素過程」で構成されており、その各反応素過程における特定のエピゲノム修飾の貢献度を定量的に分析することは、これまで困難でした。それは、特定の化学修飾を含んだエピゲノムやクロマチンを試験管内で精密に再構成することが難しかったからです。

ヒトゲノムには約 2 万種類の遺伝子が含まれていますが、これらは RNA ポリメラーゼ I、II、III のいずれかの RNA 合成酵素によって転写されます。遺伝子の中でも、RNA ポリメラーゼ III によって転写される 5S リボソーム DNA (5S rDNA) と呼ばれる遺伝子は、転写される塩基配列の長さが約 120 塩基と短く、遺伝子の本体部分にヌクレオソームを 1 個だけ含むクロマチンを作るという特徴があります。そのため、5S rDNA は、クロマチンを鋳型とする転写反応を試験管内で分析するモデル実験系として知られています。5S rDNA 遺伝子を直列に二つ連結したジヌクレオソーム DNA は、アセチル化されたヒストン 8 量体を用いて再構成した場合、転写可能な状態になります。しかし、試験管内で観察する転写反応は通常、標識されたリボヌクレオチド<sup>[3]</sup>を用いて転写した RNA を反応後に電気泳動で検出することが多く、その反応の量や進行度を経時的に測定することが困難です。このことも、クロマチンからの転写の素過程におけるエピゲノム修飾の貢献度の定量分析が難しかった理由です。

このような背景に基づき、共同研究グループは、特定のエピゲノム修飾が転写の制御に果たす貢献度を反応素過程ごとに定量的に理解するための方程式を導出することを目指しました。

## 2. 研究手法と成果

共同研究グループはまず、クロマチンからの転写反応を経時的に測定するための鋳型となる DNA を設計しました。これは、5S rDNA 遺伝子に外来遺伝子 (*c-fos*) 由来の塩基配列を挿入し、この遺伝子カセットを直列に二つ連結してジヌクレオソーム DNA とするものです (図 1A)。このジヌクレオソーム DNA から転写された RNA は、蛍光標識した外来遺伝子プローブを用いることで、蛍光相関分光法<sup>[9]</sup>により経時的な検出が可能になります。

次に、4 カ所のリシン残基が同時にアセチル化されたヒストン H4 (4Kac 修飾 H4) を得るため、遺伝暗号の拡張技術<sup>注 1)</sup>を用いて、5 番目、8 番目、12 番目、16 番目のリシン残基をアセチルリシン残基に置き換えた組換えタンパク質を無細胞タンパク質合成技術<sup>[10]</sup>で作製しました。これに、他の 3 種類のコアヒストン (H2A、H2B、H3) と前述のジヌクレオソーム DNA を合わせて、クロマチンを再構成しました (図 1C)。さらに、4Kac 修飾 H4 と比較するため、無修飾 H4 を含むジヌクレオソームも同様に再構成しました (図 1B)。

そして、無修飾 H4 と 4Kac 修飾 H4 を含むジヌクレオソームで、DNA とヒストンの巻き付き状態に違いがあるかを調べるため、DNA 消化酵素 (エンドヌクレアーゼ) を用いた消化アッセイを行いました。この消化酵素は、ヒストンと巻き付いていない裸の DNA を消化しやすいことが知られていますが、消化アッセイではジヌクレオソームの消化パターンに両者の差は見られませんでした (図 1D)。このことから、4Kac 修飾 H4 は無修飾 H4 の状態と比べて、クロマチンを緩める反応素過程を促進しないことが確認できました。

注 1) 2015 年 5 月 18 日「DNA 情報の変換ルールを人為的に改変」  
[https://www.riken.jp/press/2015/20150518\\_1/](https://www.riken.jp/press/2015/20150518_1/)

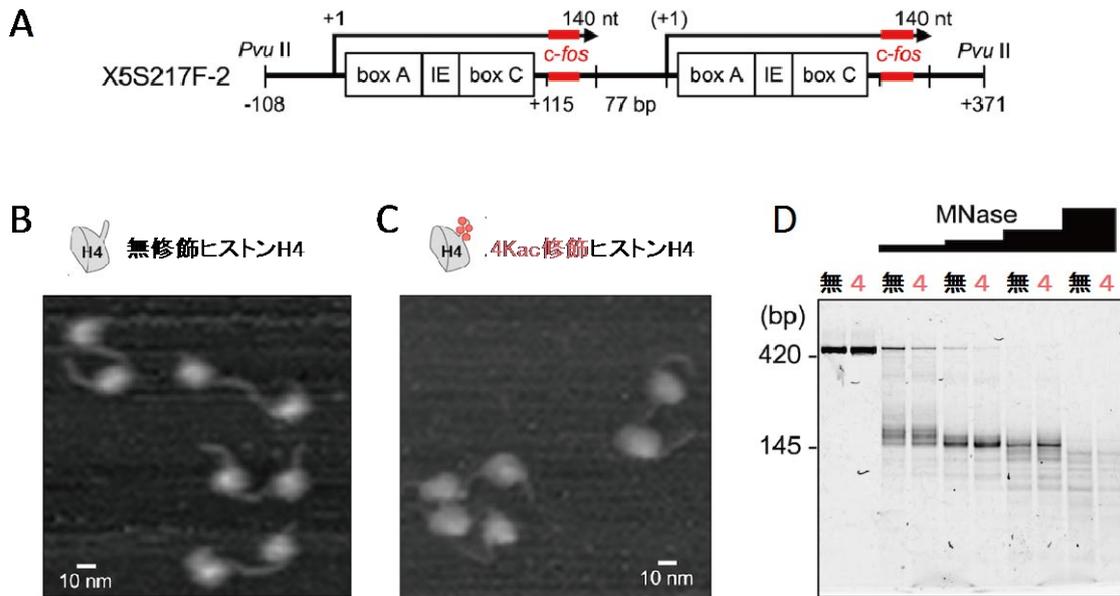


図 1 クロマチンからの転写に用いる 4Kac 修飾ジヌクレオソームの再構成

- A) ジヌクレオソーム遺伝子カセット X5S197-F2 の模式図。5S リボソーム DNA (5S rDNA) 遺伝子の転写産物を矢印で、その内部制御領域を四角 (box A、IE、box C) で、蛍光相関分光測定のための 20 塩基の外来遺伝子 (*c-fos*) 由来のアンチセンスプローブの部分塩基配列を赤で示す。
- B) 無修飾ヒストン H4 で再構成した 5S rDNA 遺伝子ジヌクレオソームの原子間力顕微鏡像。
- C) 4Kac 修飾ヒストン H4 で再構成した 5S rDNA 遺伝子ジヌクレオソームの原子間力顕微鏡像。
- D) エンドヌクレアーゼ (MNase) を用いたジヌクレオソームの消化アッセイ。[無]のレーンは、無修飾 H4 を含むジヌクレオソームを消化した DNA の泳動、[4]のレーンは、4Kac 修飾 H4 を含むジヌクレオソームを消化した DNA の電気泳動、「MNase」のヒストグラムは、1 マイクログラム DNA あたりの MNase 使用量を示す。MNase で消化しないジヌクレオソーム DNA (左から 1 番目と 2 番目のレーン) は、ヌクレオソーム 2 個分の DNA に相当する 424 塩基対 (bp) のバンドが見られる。MNase 量の増加に伴って、MNase で消化されにくいヌクレオソームの DNA を示す 145~147bp のバンドが蓄積し、その後減少していくが、その傾向は無修飾 H4 と 4Kac 修飾 H4 でほぼ同様である。これは、ヌクレオソーム構造による MNase 消化の阻害効果が等しく起きていることを示す。なお、本実験に用いたジヌクレオソーム DNA は *c-fos* 由来の配列を含まないため、(A)で示した配列よりやや短い。

次に、蛍光相関分光法を用いた経時的な転写反応の検出系を構築しました。試験管内での転写反応には、5S rDNA の転写に必要な RNA ポリメラーゼ III を含む転写装置が蓄積されているカエル卵母細胞核抽出物を用いました。この抽出液には、内在性の 5S rDNA から転写された 5s rRNA も多く含まれますが、本実験で用いたジヌクレオソーム DNA はカエルゲノムに存在しない外来遺伝子由来の塩基配列を持つため、そのアンチセンス RNA<sup>[11]</sup>を蛍光プローブとして用いることで区別できます。検出の原理は、蛍光標識したアンチセンス RNA プローブがジヌクレオソーム DNA から転写された RNA とハイブリダイゼーション<sup>[12]</sup>すると、蛍光相関分光法によって観察される蛍光標識体の拡散速度が低下することを利用するものです (図 2A, B)。検証実験では、*c-fos* 由来塩基配列を含む 5S rDNA を転写した場合でのみ、蛍光標識体の拡散速度が低下し (図 2C)、さらに転写された RNA の濃度と拡散速度の相関関係から、RNA の定量が可能であることが確認できました (図 2D)。

このように経時的な転写反応の検出系を確立したことで、さまざまな状態の DNA からの転写がどのような速度で進むかを解析することが可能となりました。本実験では、裸の DNA (クロマチン構造をとらない DNA)、無修飾 H4 で再構成したクロマチン、4Kac 修飾 H4 で再構成したクロマチンの 3 種類を鋳型として用いて、それぞれの転写データを取得しました (図 2E)。

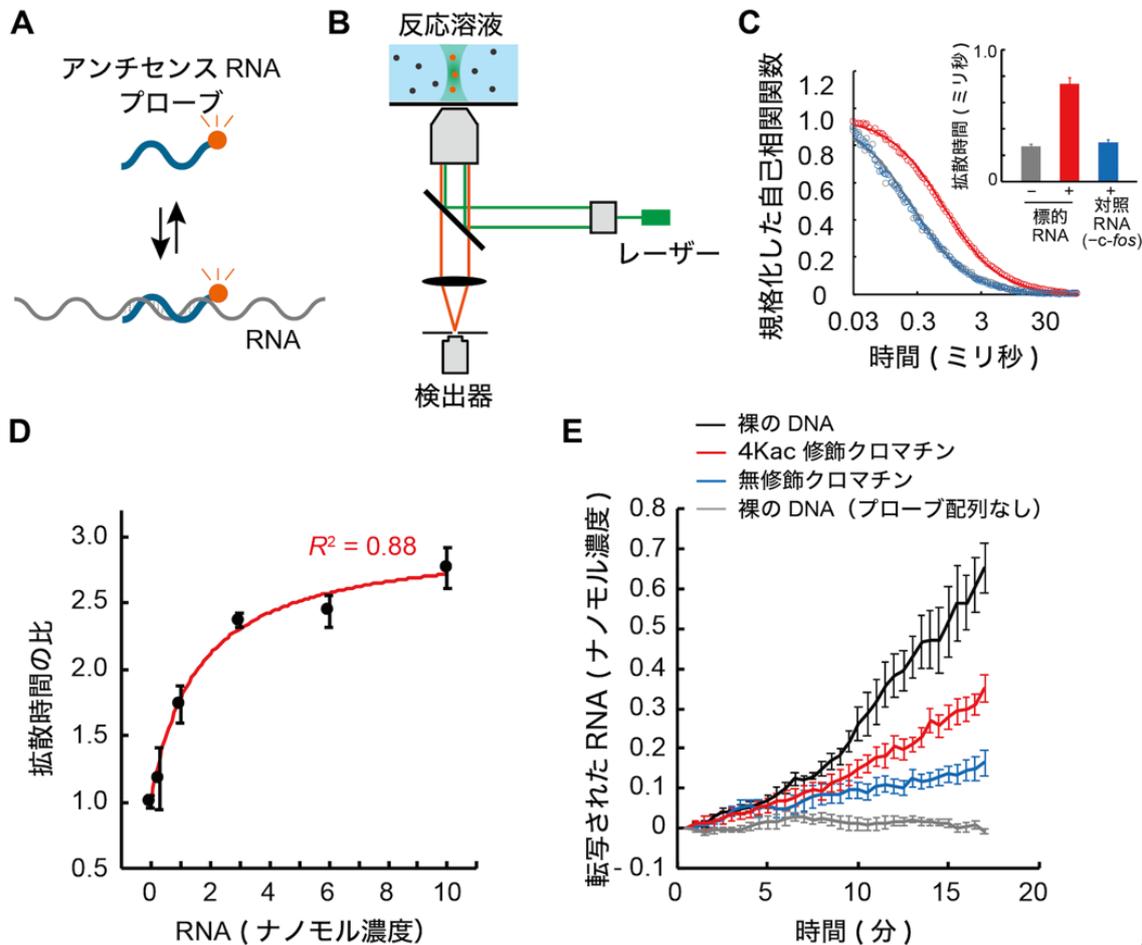


図 2 蛍光相関分光法によるクロマチンからの転写量の経時検出

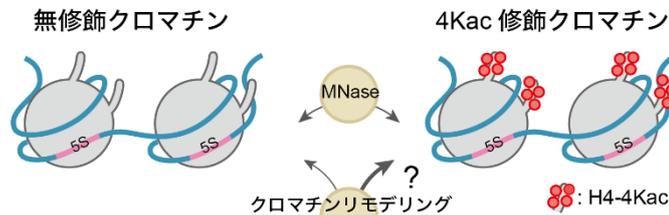
- A) 蛍光標識アンチセンス RNA プローブと RNA 転写産物とのハイブリダイゼーションの模式図。  
 B) 転写された RNA を検出するための蛍光相関分光法の模式図。転写産物とハイブリダイゼーションしたときのアンチセンスプローブの拡散時間の変化は、1 分子レベルでアバランシェフォトダイオードにより検出した。  
 C) 反応液中の蛍光自己相関関数。5S rDNA 遺伝子の 2 直列コピーから T7 RNA ポリメラーゼで末端開始 RNA を転写し、鋳型 DNA を含まないカエル卵母細胞核抽出液に添加した。丸はデータポイント、実線はフィッティング曲線を示す。挿入図は、アンチセンスプローブの平均拡散時間。赤で示した *c-fos* 由来塩基配列を含む 5S rDNA を転写した場合でのみ、蛍光標識体の拡散速度が低下した。  
 D) アンチセンスプローブ分子の濃度を関数とする平均拡散時間の検量線。5S rDNA 遺伝子の 2 直列コピーから T7 RNA ポリメラーゼで末端開始 RNA を転写し、鋳型 DNA を含まないカエル卵母細胞核抽出液に添加した。 $R^2$  は決定係数を示す。これにより、RNA の定量が可能になった。  
 E) 5S rRNA の経時検出。使用した鋳型 DNA は、灰色：*c-fos* 由来配列を含まない裸の 5S rDNA 遺伝子、黒色：*c-fos* 由来配列を含む裸の 5S rDNA 遺伝子、赤色：*c-fos* 由来配列を含む 4Kac 修飾ジヌクレオソーム 5S rDNA 遺伝子、青色：*c-fos* 由来配列を含む無修飾ジヌクレオソーム 5S rDNA 遺伝子を示す。

得られた経時的な転写データをもとに、H4のアセチル化修飾の有無がクロマチンからの転写反応のどの素過程に影響するかを定量的に解析しました。この定量解析を行うため、クロマチンからの転写反応の単純化モデルを構築しました(図3)。このモデルでは、クロマチンからの転写が次の四つの素過程で構成されると仮定しました。

- (I) クロマチンアクセシビリティ  
クロマチンへのタンパク質の接近可能性を評価する指標。エンドヌクレアーゼなどの酵素を用いて評価。
- (II) 転写可能なクロマチンの形成  
RNAポリメラーゼによる転写を可能にするための一連のクロマチン仲介反応をカバーする素過程。
- (III) 転写前のプライミング  
プロモーター<sup>[13]</sup>上における基本転写因子<sup>[14]</sup>やRNAポリメラーゼによる転写前開始複合体の段階的な分子集合の素過程。
- (IV) RNAポリメラーゼによる転写  
RNAポリメラーゼによる転写の素過程。

このモデルでは、裸のDNAからの転写反応は素過程(III)と(IV)で構成され、クロマチンからの転写反応は素過程(I)から(IV)によって段階的に構成されていきます。

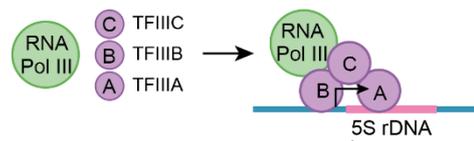
(I) クロマチンアクセシビリティ



(II) 転写可能なクロマチンの形成



(III) 転写前のプライミング



(IV) RNA ポリメラーゼによる転写

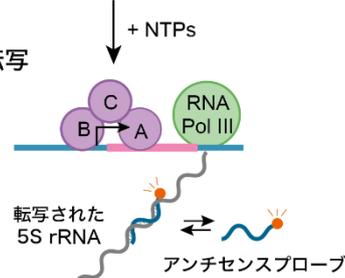


図 3 クロマチンからの転写を反応素過程に分けて記述した単純化モデル

(I)から(II)への進行は、生体内ではエピゲノムを認識し、クロマチンを再構成するクロマチンリモデリング因子などが関わる。こうして転写可能になったクロマチンには、RNA ポリメラーゼ III (RNA Pol III) と基本転写因子群 (TFIIIA、TFIIIB、TFIIIC) が結合し(III)、RNA ポリメラーゼによる転写が始まる(IV)。

次に、クロマチンからの転写反応の単純化モデルと蛍光相関分光法で得られた転写データに基づいて、転写反応の各素過程の速度論モデルを構築し、転写データを定量化しました。鋳型の DNA や転写産物の RNA の濃度変動を記述する方程式を構築し (図 4A)、クロマチンからの転写量  $Z_{\xi}$  と裸の DNA からの転写量  $Z_{裸}$  の DNA は、それぞれ図 4B と図 4C の方程式で記述できることを導きました。これらの方程式では、転写反応はミカエリス・メンテン式<sup>[15]</sup>型の酵素反応を仮定し、 $Z$  は、反応時刻  $t$  におけるクロマチンまたは裸の DNA からの転写量を示す  $t$  の関数となります。

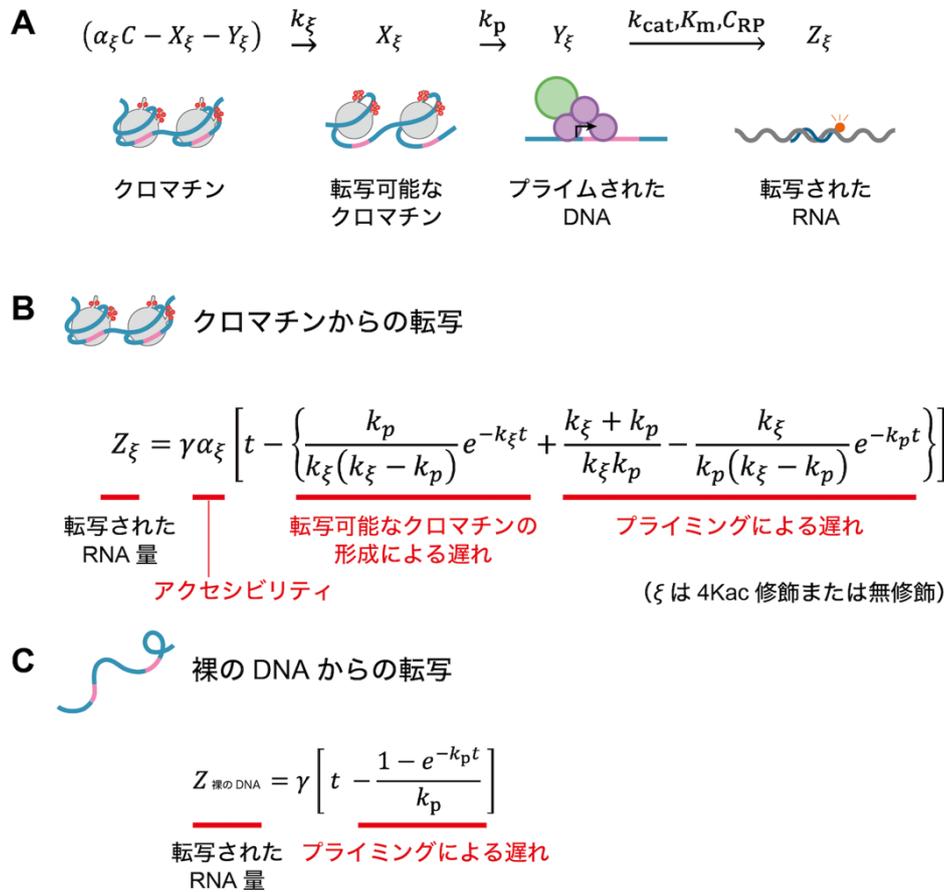


図 4 クロマチンからの転写反応の速度論モデル

- A) クロマチンからの転写反応のモデル化の説明。 $\xi$  は、*c-fos* 由来のアニール配列を含むクロマチンテンプレートの種類 (4Kac 修飾または無修飾のクロマチン)、 $C$  は鋳型の濃度、 $\alpha_\xi$  はクロマチン ' $\xi$ ' のアクセシビリティ、 $k_\xi$  はクロマチン ' $\xi$ ' の転写可能なクロマチンの形成速度、 $k_p$  はプライミング速度、 $k_{cat}$  は RNA ポリメラーゼ III のターンオーバー数、 $K_m$  はミカエリス・メンテン定数、 $C_{RP}$  は RNA ポリメラーゼ III の濃度を表す。
- B) クロマチンからの転写反応の速度論。 $\gamma$  は転写速度、 $t$  は反応時刻を表す。
- C) 裸の DNA からの転写反応の速度論。

これらの方程式を用いて、素過程(I)から(IV)までのクロマチンからの転写反応の反応速度論をシミュレーションした結果、(II)の転写可能なクロマチンの形成速度  $k_\xi$  は、転写量の最終的な増加速度ではなく、転写が始まるまでの時間の遅延に影響することを確認しました。一方、(I)のアクセシビリティ  $\alpha_\xi$  は、転写が始まるまでの時間の遅延ではなく、転写量の最終的な増加速度に影響することを確認しました。

そこで、今回得られた転写データをこの速度論モデルに当てはめることにより、クロマチンからの転写を制御する速度論パラメータを推定しました。まず、裸の DNA の転写データを速度論の方程式に当てはめ、転写速度  $\gamma$  が毎分 0.052 ナノモル濃度 (nM、1 nM は 10 億分の 1 モーラー)、およびプライミング速度  $k_p$  が毎分 0.22 であることを算出しました (図 5A)。

次に、これらの値を用いて、クロマチンからの転写反応の速度論を推定しまし

た。図 1D のエンドヌクレアーゼの消化データに基づき、クロマチンに対するアクセシビリティ  $\alpha_\xi$  をアセチル化状態によらず 1 と仮定して、4Kac 修飾および無修飾クロマチンの転写データをフィッティングした結果、転写可能なクロマチンの形成速度  $k_\xi$  は、4Kac 修飾クロマチンの場合は毎分約 0.15、無修飾クロマチンの場合は毎分約 0.052 の値が得られました (図 5B)。このフィッティングの全ての解析で、決定係数<sup>[16]</sup>は十分に大きい値 ( $\geq 0.91$ ) でした。

以上の結果から、本研究で構築した反応速度論モデルがクロマチンからの転写反応を妥当に記述できることが示されました。最終的に、今回の方程式と転写データを用いた速度論分析により、4Kac 修飾状態における転写可能なクロマチンの形成速度は、アセチル化が全くない状態と比較して  $2.9 \pm 0.4$  倍速いことが分かりました (図 5C)。

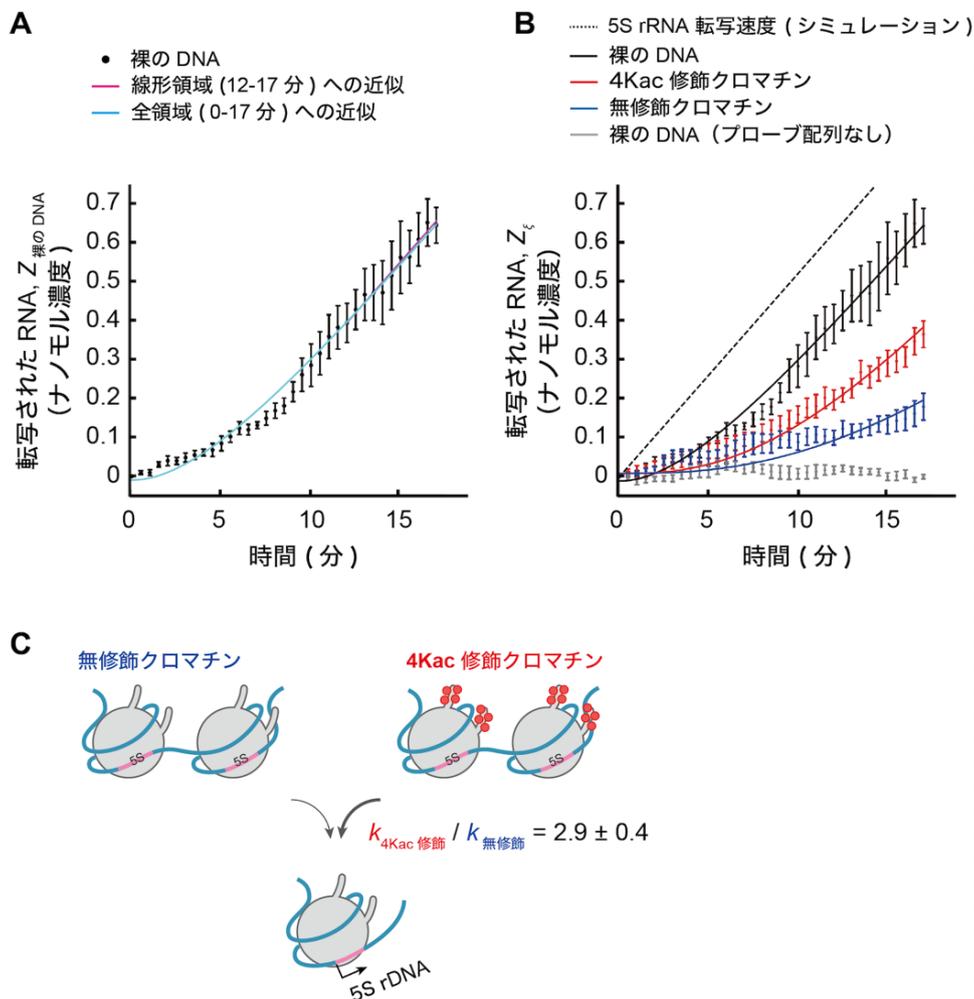


図 5 速度論モデルへのフィッティング解析

A) 転写速度  $\gamma$  値とプライミング速度  $k_0$  値の決定。 $\gamma$  値は裸の DNA の実験データの線形領域 (12~17 分) を速度論モデル  $Z_{裸のDNA} = \gamma t + z_1$  にフィッティングして決定した ( $z_1$  は切片を示す)。フィット値は  $\gamma = 0.052 \pm 0.003$  nM/分、 $z_1 = -0.23 \pm 0.05$  nM であった。得られた  $\gamma$  を用いてデータの全領域 (0~17 分) を速度論モデル  $Z_{裸のDNA} = \gamma [t(1 - e^{-k_0 t}) / k_0] + z_2$  でフィットした。 $z_2$  は初期段階での実験誤差を解消するために導入された切片を示す。フィット値は  $k_0 = 0.22 \pm 0.01$ /分、 $z_2 = -0.010 \pm 0.01$  nM であった。

- B) 転写可能なクロマチンの形成速度  $k_{\xi}$  値の決定。各 DNA 状態におけるフィッティング結果。 $Z_{\xi}$  は転写産物の濃度であり、 $\xi$  は 4Kac 修飾、無修飾、または裸の DNA を示す。(A) で得られた値をフィッティング解析に用いた。4Kac 修飾クロマチンの  $k_{\xi}$  は  $0.15 \pm 0.009$ /分、無修飾クロマチンの  $k_{\xi}$  は  $0.052 \pm 0.006$ /分だった。
- C) 4Kac 修飾によるクロマチンからの転写促進の模式図。B の結果から、4Kac 修飾の状態は、無修飾の状態と比べて転写可能なクロマチンの形成速度  $k_{\xi}$  が  $2.9 \pm 0.4$  倍速いことが判明した。

### 3. 今後の期待

本研究で定式化したエピゲノム転写の方程式は、ヒストンのアセチル化修飾の意義の定量的な理解に留まらず、ヒストンや DNA に対するアセチル化以外の化学修飾やその組合せの分析にも広く適用できます。また、細胞の核内においてエピゲノムを鋳型として起こる生体内現象には、転写以外にエピゲノムの複製や修復などがあります。今後、これらの現象においてもそれぞれの反応素過程におけるエピゲノム修飾の貢献度を定量的に分析する研究に応用できると考えられます。

なお、今回再構成した 4Kac 修飾のクロマチンは、ヒストン H4 の 5 番目と 8 番目のリシン残基の同時アセチル化修飾を含みます。この同時アセチル化状態は、がん遺伝子の発現を活性化し、アセチル化修飾に結合するタンパク質を阻害する薬剤に対して抵抗性を示すことが分かっています<sup>注 2)</sup>。がん細胞などで見られるエピゲノムの異常を理解する上でも、エピゲノム修飾がクロマチンからの転写の反応素過程の速度に与える影響を定量化する方程式は重要なツールになると期待できます。

注 2) 2018 年 8 月 8 日 『『がんエピゲノム』を検出する新手法』  
[http://www.riken.jp/press/2018/20180808\\_2/](http://www.riken.jp/press/2018/20180808_2/)

### 4. 論文情報

<タイトル>

Quantification of the effect of site-specific histone acetylation on chromatin transcription rate

<著者名>

Masatoshi Wakamori, Kohki Okabe\*, Kiyoe Ura, Takashi Funatsu, Masahiro Takinoue\*, and Takashi Umehara\*

<雑誌>

*Nucleic Acids Research*

<DOI>

10.1093/nar/gkaa1050

## 5. 補足説明

### [1] エピゲノム

細胞内の全 DNA の塩基配列として記録された遺伝情報の総体を指す「ゲノム」に対し、DNA やヒストンの化学修飾などによって細胞の個性を記憶する情報の総体を「エピゲノム」と呼ぶ。

### [2] 化学修飾

生体分子に限らず、環境中に存在する分子は、環境内の他の分子と反応してさまざまな化学修飾を受けうる。タンパク質では、構成するアミノ酸の側鎖の官能基にアセチル化やメチル化などのさまざまな化学修飾が起こる。アセチル化修飾の場合、リシン残基の側鎖アミンや N 末端残基の主鎖アミンにアセチル基 ( $\text{CH}_3\text{CO}-$ ) の結合が起こる。通常、ヒストンの個々のリシン残基の側鎖は、アセチル基転移酵素と脱アセチル化酵素による可逆的な酵素反応を介して、アセチル化修飾があるかないかの 2 状態のどちらかで存在する。

### [3] 転写、RNA ポリメラーゼ、リボヌクレオチド

遺伝子 DNA の塩基配列を RNA ポリメラーゼが読み取り、2 本鎖 DNA の片方の塩基配列に対応する RNA を合成する反応を「転写」と呼ぶ。「RNA ポリメラーゼ」は、DNA を鋳型として RNA を構成する基本単位の「リボヌクレオチド」を重合する酵素であり、真核生物は 3 種類の RNA ポリメラーゼ I、II、III を持つ。多くの遺伝子は、その本体部分だけで転写が起こるのではなく、遺伝子の上流または下流に転写反応を質的・量的に変化させる DNA 配列を持つ。今回の実験系で用いた 5S rDNA 遺伝子は、遺伝子の本体部分と重なる位置に内部制御領域と呼ばれる遺伝子発現の制御配列を持ち、RNA ポリメラーゼ III に認識される。

### [4] クロマチン

ひも状の長鎖からなるゲノム DNA は、部分的にヒストンと複合体を形成して数珠のような繊維状の構造を形成する。この構造をクロマチンと呼ぶ。

### [5] ヒストン、ヒストン H4

DNA を巻き付けることで、長大な DNA を核内に納めるタンパク質をヒストンという。代表的なヒストンは H1、H2A、H2B、H3、H4 の 5 種類があり、H2A、H2B、H3、H4 の 4 種類のコアヒストンが二つずつ集まって、ヒストン 8 量体を形成する。ヒストン H4 は、酵母からヒトに至る真核生物のタンパク質で、アミノ酸配列が最も高く保存されている。

### [6] リボソーム DNA (rDNA)

翻訳装置を構成するリボソーム RNA (rRNA) をコードする遺伝子。RNA ポリメラーゼ I または III により転写され、細胞内の RNA のほとんどを占める。rRNA の種類は沈降定数 (S) で命名されており、5S rDNA は 5S rRNA をコードする。

### [7] ヒストン H4 の N 末端テイルが最も高度にアセチル化された状態

ヒストン H4 の N 末端領域は、特定の構造を持たないテイル (尾部) として溶液中で

揺らいでいる。ヒストンテイルは、N 末端側の 1 残基目から数えて 5 番目、8 番目、12 番目、16 番目の 4 カ所のアミノ酸が塩基性のリシン残基（1 文字略称は K）で構成される。この 4 カ所のリシン残基側鎖のアミノ基が全てアセチル化修飾されたヒストン H4 は、細胞内において N 末端テイルが最も高度にアセチル化された状態であり、転写可能なクロマチンによく見られる。

#### [8] ヌクレオソーム

真核生物の細胞核内において、DNA とヒストン 8 量体が周期的に巻き付いて形成する複合体をヌクレオソームと呼ぶ。

#### [9] 蛍光相関分光法

蛍光分子を含む試料の微小範囲に光を照射して、蛍光強度の揺らぎを介して分子の運動性を 1 分子レベルで測定する方法。分子の拡散計数やその変化を計測できる。

#### [10] 無細胞タンパク質合成技術

大腸菌などの生きた細胞を使用せず、代わりに大腸菌などの各種細胞内に存在する酵素や基質などを利用してタンパク質を合成する方法。転写（DNA から mRNA を合成する段階）と翻訳（mRNA からタンパク質を合成する段階）を同時進行する方法と、翻訳のみを行う方法がある。本研究では、転写と翻訳を同時進行する方法を用いた。

#### [11] アンチセンス RNA

DNA の配列として書かれた遺伝情報は RNA に転写される。タンパク質をコードするメッセンジャー RNA (mRNA) や、tRNA、rRNA のように機能的な配列として転写された RNA をセンス RNA と呼ぶのに対し、それらの塩基配列に相補的な塩基配列を持つ RNA をアンチセンス RNA と呼ぶ。

#### [12] ハイブリダイゼーション

DNA または RNA の 2 本の一本鎖核酸が互いに相補的な塩基配列を持つ場合に、該当配列間の水素結合によって生じる 2 本鎖の形成をハイブリダイゼーションと呼ぶ。今回の実験系では、蛍光標識した RNA 分子プローブが溶液中に存在しており、転写反応によって RNA が生じると、蛍光分子プローブがハイブリダイゼーションして 2 本鎖の RNA 複合体が形成される。この複合体の拡散係数を蛍光相関分光法で計測することにより、転写産物の濃度とその変化を経時的に測定できる。

#### [13] プロモーター

DNA 上で遺伝子 (RNA) として転写される領域の近くにあり、遺伝子を発現させる機能を持つ塩基配列。5S rDNA 遺伝子では、内部制御領域がプロモーターにあたる。

#### [14] 基本転写因子

真核生物の転写反応は、酵素活性を持つ RNA ポリメラーゼのほかに複数のタンパク質がプロモーターに結合する必要がある。このタンパク質を基本転写因子と呼び、RNA ポリメラーゼ III が行う転写の場合は TFIIIA、TFIIIB、TFIIIC の三つがある。

### [15] ミカエリス・メンテン式

酵素反応の速度を表す一般的な式。酵素反応の速度  $V$  の基質依存性は多くの場合、 $V = k_{cat}[E_0][S]/(K_m+[S])$  の式で記述でき、この式をミカエリス・メンテン式という。ここで $[E_0]$ は全酵素の濃度、 $[S]$ は基質の濃度を表す。 $k_{cat}$ はターンオーバー数で、単位時間あたりに1個の酵素が行う酵素反応の回数を示す。 $K_m$ はミカエリス・メンテン定数で、酵素と基質の結合の強さに対応し、値が小さいほど酵素と基質の結合が強いことを示す。

### [16] 決定係数

実験で得られた数値データの相関関係のある数式で近似したとき、説明変数に対してその数式で予測される目的変数が、実際のデータとどの程度一致しているかを示す指標。0から1の値を取り、1に近いほど高く予測できていることを意味する。

## 6. 発表者・機関窓口

<発表者> ※研究内容については発表者にお問い合わせください。

理化学研究所 生命機能科学研究センター エピジェネティクス制御研究チーム

チームリーダー 梅原 崇史 (うめはら たかし)

技師 若森 昌聡 (わかもり まさとし)

TEL : 045-503-9457 FAX : 045-503-9201

E-mail : takashi.umehara[at]riken.jp (梅原)、masatoshi.wakamori[at]riken.jp (若森)

東京大学 大学院薬学系研究科

助教 岡部 弘基 (おかべ こうき)

TEL : 03-5841-4761 FAX : 03-5802-3339

E-mail : okabe[at]mol.f.u-tokyo.ac.jp

東京工業大学 情報理工学院 情報工学系

准教授 瀧ノ上 正浩 (たきのうえ まさひろ)

TEL : 045-924-5680 FAX : 045-924-5206

E-mail : takinoue[at]c.titech.ac.jp

千葉大学 大学院理学研究院

教授 浦 聖恵 (うら きよえ)

TEL : 043-290-2814 FAX : 043-290-2776

E-mail : kiyoeura[at]chiba-u.jp

<理化学研究所 生命機能科学研究センターに関する問い合わせ>

理化学研究所 生命機能科学研究センター センター長室 報道担当

山岸 敦 (やまぎし あつし)

E-mail : ayamagishi[at]riken.jp

---

<機関窓口>

\* 今般の新型コロナウイルス感染症対策として、理化学研究所では在宅勤務を実施しておりますので、メールにてお問い合わせ願います。

理化学研究所 広報室 報道担当

E-mail : ex-press[at]riken.jp

東京大学 大学院薬学系研究科・薬学部 庶務チーム

TEL : 03-5841-4702

E-mail : shomu[at]mol.f.u-tokyo.ac.jp

東京工業大学 総務部 広報課

TEL : 03-5734-2975 FAX : 03-5734-3661

E-mail : media[at]jim.titech.ac.jp

千葉大学 企画総務部渉外企画課広報室

TEL : 043-290-2018

E-mail : koho-hp[at]office.chiba-u.jp

※上記の[at]は@に置き換えてください。

---