

柔軟な染色体接着のしくみを発見 － 染色体接着機構の解明に大きな前進 －

この度、名古屋大学大学院理学研究科（研究科長：松本 邦弘）の西山 朋子（にしやま ともこ）准教授の研究チームは、染色分体間接着因子コヒーシンの染色体上での挙動をとらえることに世界で初めて成功しました。コヒーシンは、染色分体間の接着を担う重要な因子で、私たちの体を構成する全ての細胞の生存に必須の因子です。これまでコヒーシンが染色体上に存在することは知られていましたが、その動態は謎に包まれていました。本研究では、コヒーシン一分子の染色体上での挙動を捉えることに世界ではじめて成功し、コヒーシンが染色体上でダイナミックな挙動を示すこと、その動きがいくつかの因子で制御されていること、接着因子コヒーシンの柔軟な動きが染色体機能に重要であることが分かり、染色体接着機構の解明に大きな前進をもたらすものとなりました。

今後、染色体接着・分配のしくみの解明やヒト遺伝性疾患メカニズムの解明に向けて、新たな道が拓けるものと期待されます。

この研究成果は、平成 28 年 12 月 15 日付（欧州時間）欧州科学雑誌「The EMBO Journal」に掲載されました。

この研究は、平成 25 年度から始まった文部科学省科学研究費助成の支援のもとでおこなわれたものです。

【本研究のポイント】

- ・ 染色分体間接着因子コヒーシン単分子の染色体上での挙動を世界ではじめて捉えることに成功した。
- ・ 染色体上での挙動を制御する複数の因子を明らかにした。
- ・ DNA 複製中のコヒーシン動態をとらえることに成功し、柔軟な動態が染色体機能に重要であることを明らかにした。
- ・ 染色体接着・分配機構の解明やコヒーシンを原因遺伝子とする遺伝性疾患治療への貢献が期待される。

【研究背景】

私たちヒトを含む真核生物¹⁾の細胞では、ゲノム情報を保有した染色体が複製され、それぞれのコピーが次世代の娘細胞へ均等に分配されることで、遺伝情報が正しく伝達されていきます。この正確な遺伝情報伝達には、ゲノムを複製し、そのコピー同士を均等に分配する正確なしくみが必要です。この仕組みが働くために欠かすことができないのが「姉妹染色分体間接着²⁾」です。ゲノムのコピーである姉妹染色分体同士の間が接着されてはじめて、染色体の均等分配が可能になります。この姉妹染色分体間接着を担うのが、コヒーシン³⁾と呼ばれるタンパク質複合体です。コヒーシンの発見以来、コヒーシンによる接着機能の重要性は広く認知され、近年ではヒトの遺伝性疾患や白血病をはじめとする癌の原因遺伝子としてコヒーシンが同定され、医学的な観点からも注目を集めています。

コヒーシンは、図1に示すようにリング状のタンパク質複合体がDNAを抱え込むことで、染色分体同士を繋ぎ止めていることが知られています。しかし、このリングが2本のDNAを抱え込む仕組みは、未だに明らかになっていません。また、その構造故に、染色体上での様々な不都合が想定されます。例えば、DNAが複製されるときや、染色体上で遺伝子が転写される時、コヒーシンのリングは、それら染色体機能の障害となる可能性が考えられます。コヒーシンリングが染色体上でどのように振る舞い、接着という重要な機能を果たしているのか、そのしくみはこれまで明らかにされていませんでした。

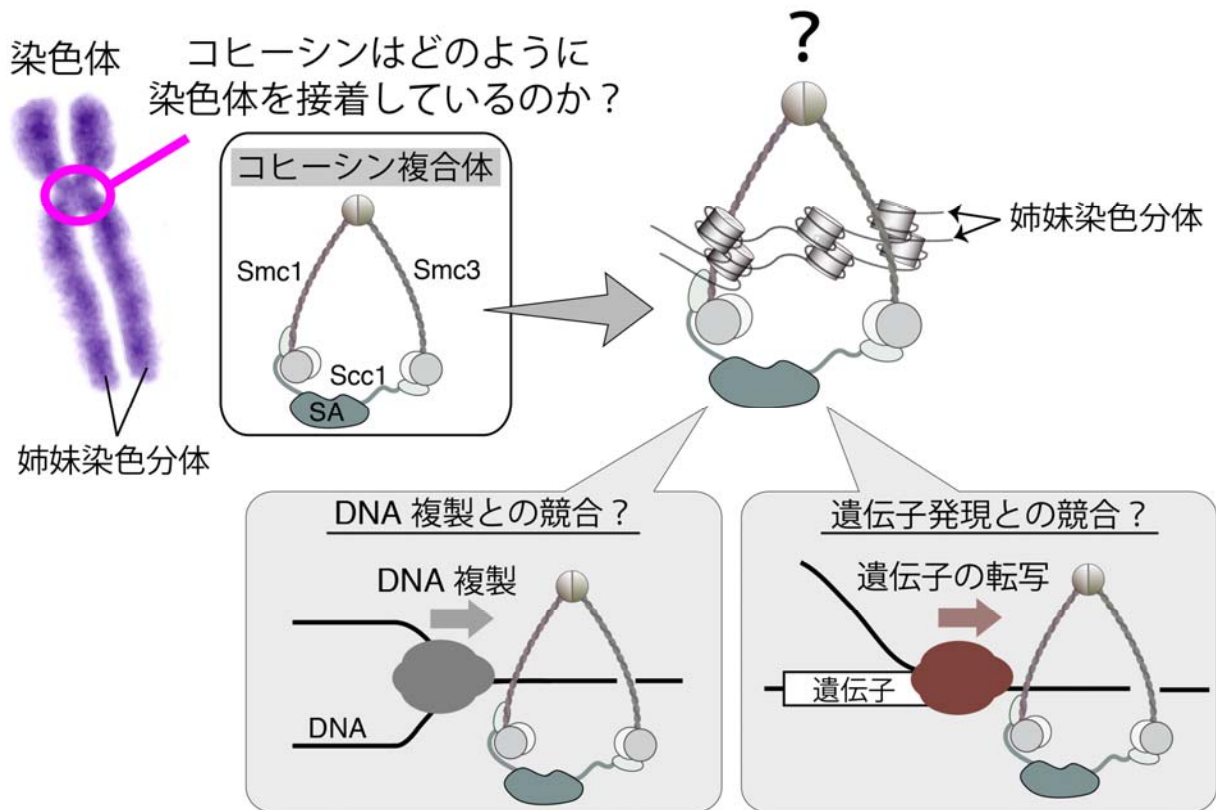


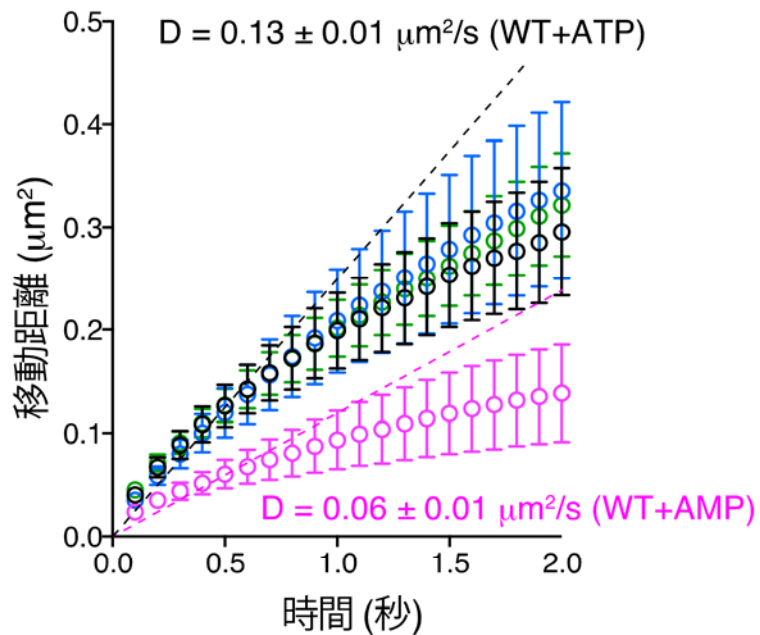
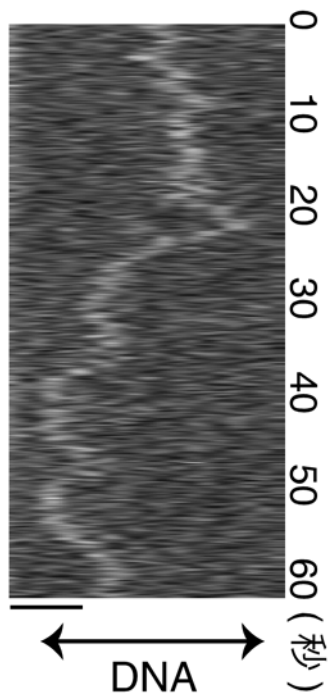
図1 コヒーシン複合体による接着のしくみをめぐる問題

【研究内容】

今回、研究チームでは、コヒーシ複合体一分子を観察する系をたちあげ、DNA 上のコヒーシンの挙動をとらえることに世界ではじめて成功しました。動態の詳細な解析から、コヒーシンリングは実際に DNA を抱え込む形で DNA に結合しており、DNA 上で次元の拡散運動を示すこと、ATP 加水分解⁴⁾によってその動きが促進されることが分かりました(図 2)。さらにこの運動は、コヒーシン結合因子で、接着を負に制御する Wapl-Pds5⁵⁾ 複合体によって抑制され、一方、接着を正に制御するコヒーシン Smc3 サブユニットのアセチル化修飾⁶⁾によって促進されることを発見しました(図 3)。

次に研究チームでは、細胞内と同じ環境でコヒーシンの運動を捉えるため、アフリカツメガエル卵抽出液⁷⁾中で形成させたクロマチン⁸⁾上において、コヒーシンの動態を観察できる系を確立しました。クロマチン上では、コヒーシンはヒストン⁹⁾が存在する場所で運動の遅延を示し、ヒストンの存在しない場所よりも時間をかけて通過すること、すなわち、DNA 結合因子がコヒーシンの動きの障害になっていることを発見しました(図 4)。このことは、コヒーシンがリング状の形状をしており、このリング内を通過できる分子の大きさに限界があること、そして染色体上に無数に存在するヒストンですら、その障害になり得ることを示しています。このリングの構造的制約の問題は、コヒーシンリングがどのように 2 本の染色体を接着しているのか、という未解決の問題の中でも、最も重大な争点となってきました。すなわち、リングの空間的制約によって、DNA 複製や遺伝子発現機構に支障をきたしてしまえば、染色体機能そのものが失われてしまう上に、接着すら成し遂げられない危険性が高く、細胞にとっては致命的な問題となるからです。この重要な問題に答えるため、研究チームでは、アフリカツメガエル卵抽出液中で DNA が複製する様子とコヒーシン一分子をリアルタイムで観察する系を構築し、DNA 複製中におけるコヒーシンの挙動を捉えることに世界ではじめて成功しました(図 5)。コヒーシンの挙動はいくつかのパターンに分けられますが、DNA 複製の進行と共に DNA 上を移動するコヒーシン(グループ 1)が見られた一方、DNA 複製を止めてしまうコヒーシンがいることもわかりました(グループ 2)。また、全体の 3 割超のコヒーシンは、複製された DNA に取り込まれていく様子が観察され(グループ 3)、このグループのコヒーシンが、接着機能に重要な役割を果たしていると考えられます。

DNA 上を自由拡散する
コヒーシン複合体



- 野生型コヒーシン+ATP
- 野生型コヒーシン+非分解型ATP
- ATP非結合型コヒーシン+ATP
- ATP非結合型コヒーシン+非分解型ATP

図2 ATP加水分解によって促進されるコヒーシンの運動

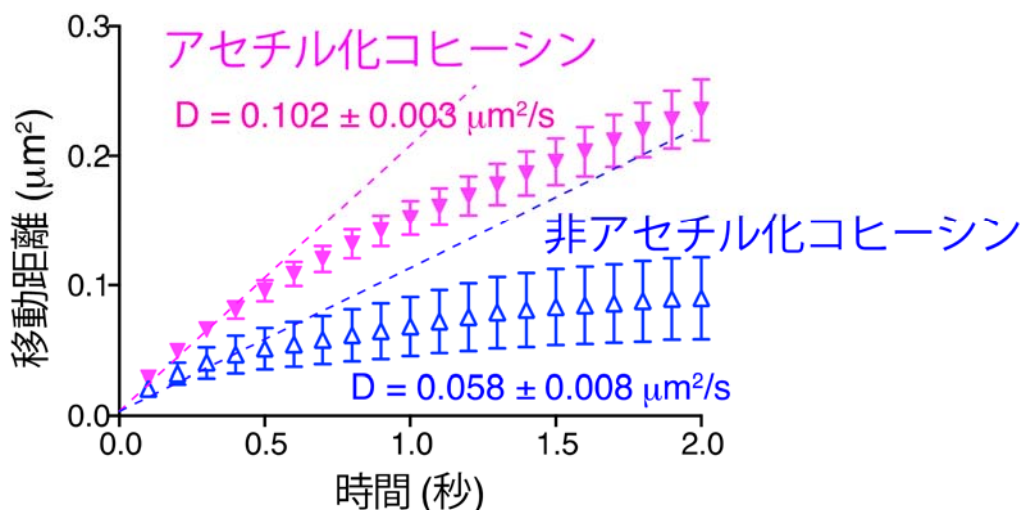
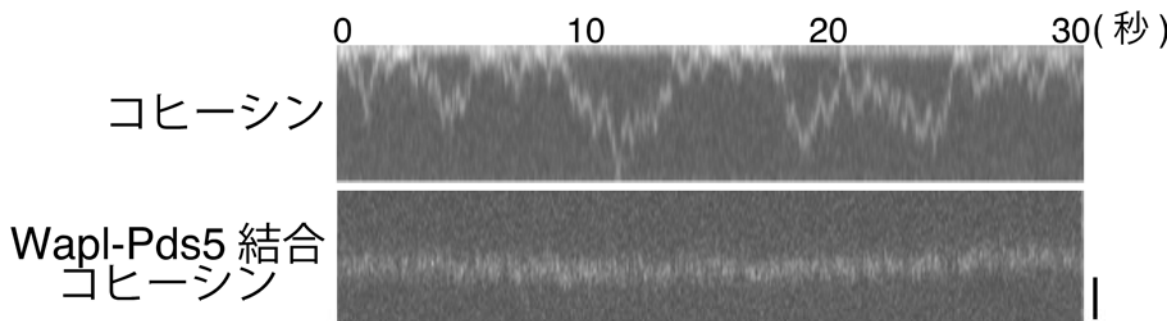


図3 コヒーシン結合因子、修飾因子によって制御されるコヒーシン運動

コヒーシン / ヒストン

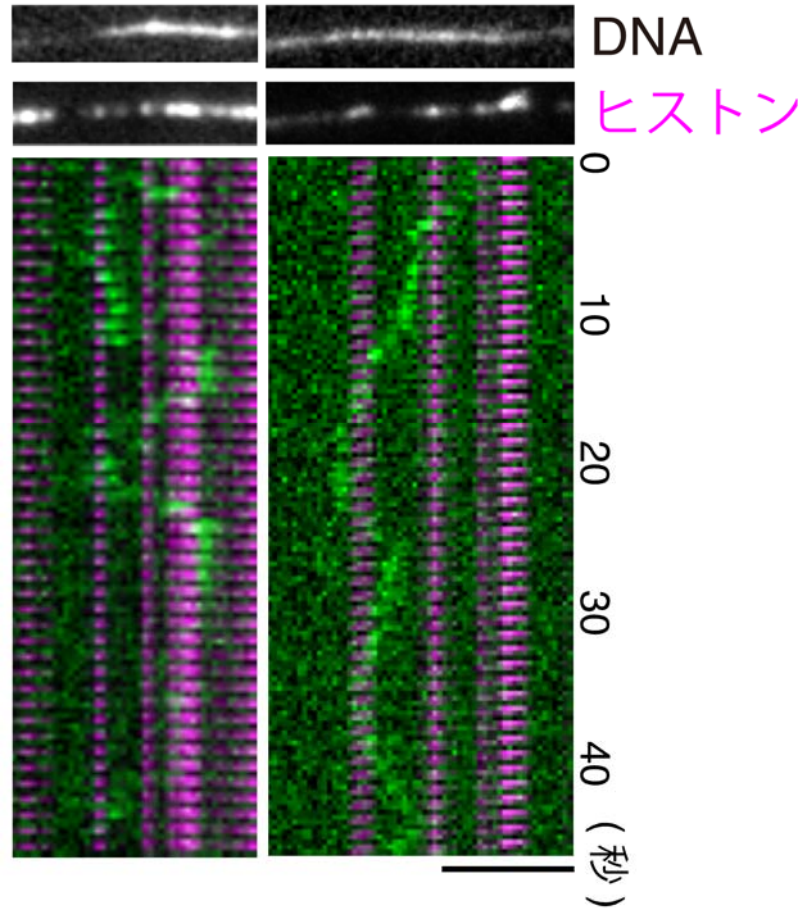


図4 ヒストンによって運動を妨げられるコヒーシン

コヒーシン / 複製された DNA

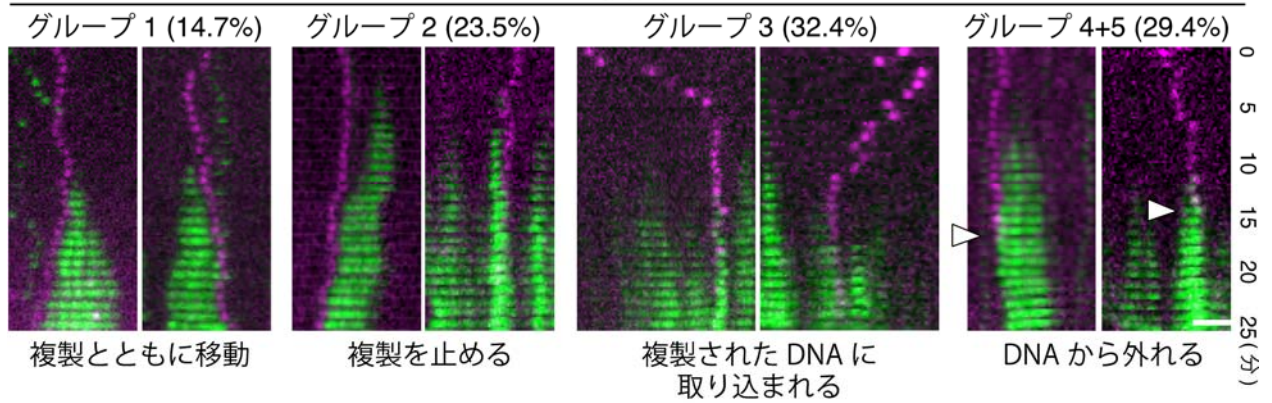


図5 DNA 複製中のコヒーシンの動き

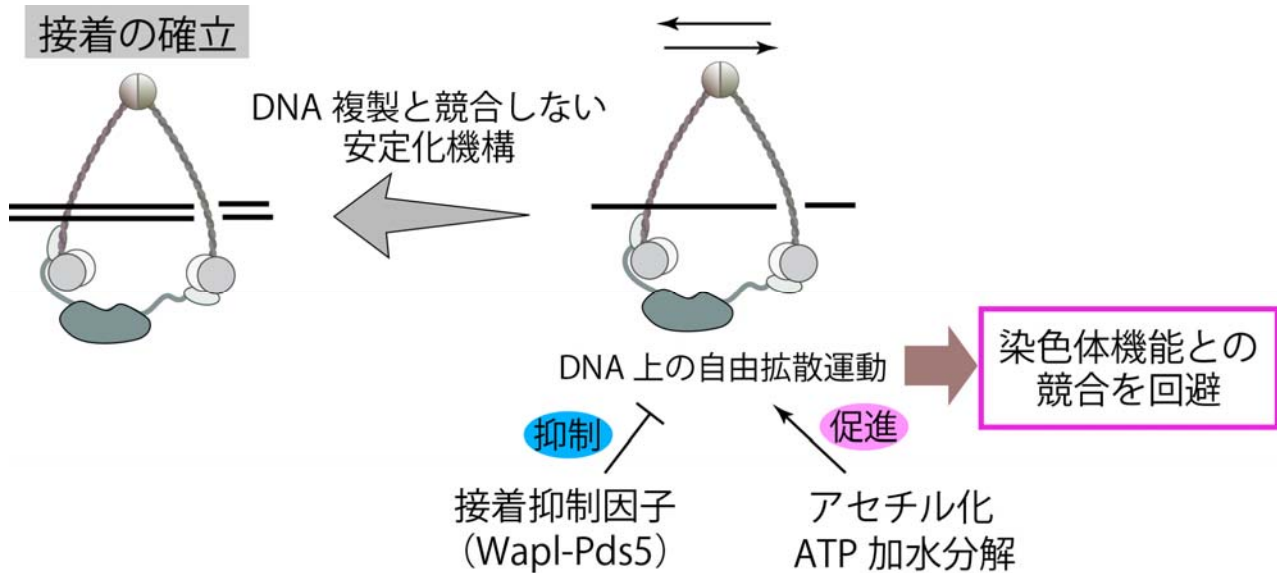


図6 コヒーシンの自由な挙動が染色体機能の発揮に重要

【成果の意義】

ゲノム情報を正確に次世代に伝達するため、細胞にとって不可欠なシステムである「姉妹染色分体間接着」の仕組みは、コヒーシンの構造や様々なコヒーシン制御因子が明らかになっている現在に至っても、未だに大きな謎として存在し続けています。本研究において、コヒーシンのDNA（クロマチン）上での挙動がダイナミックに制御されていることが明らかになったことで、コヒーシンの柔軟な動きが、染色体機能の発揮に重要であることが分かりました（図6）。また、これまで大きなブラックボックスとして存在していた「DNA複製と接着の問題」に対し、世界ではじめて、視覚的な証拠を示すことに成功しました。この発見は、複製に伴って確立される接着の分子メカニズム解明に、大きな前進をもたらすものとなります。さらに、今回はじめて明らかになったコヒーシン動態と染色体機能の関連は、コヒーシンを原因遺伝子とする癌や精神遅滞、発育不全といった種々の遺伝性疾患の原因を探る上で重要な手がかりとなり、コヒーシンが、これら疾患治療薬の有効なターゲットとなることが期待されます。

【用語説明】

- 1) 真核生物：我々ヒトをはじめとした動物、植物、菌類、原生生物などを含む、細胞核をもつ生物の一群。染色体は細胞核内に収納されている。
- 2) 姉妹染色分体間接着：細胞の自己複製にかかせないゲノムDNAの複製は真核細胞の間期核内で起こる。ゲノムDNAが複製された結果できあがった一対のコピーを、「姉妹染色分体」と呼ぶ。姉妹染色分体同士は複製と同時につなぎ合わされ（接着され）、この接着を「姉

妹染色分体間接着」という。この接着がないと、細胞は分裂に際してゲノム DNA のコピーを娘細胞に均等に分配することができず、その結果、細胞死や細胞癌化を引き起こす。

3) コヒーシン :

姉妹染色分体間接着を担うリング状のタンパク質複合体。図 1 で示すように、4 つの異なる因子 (Smc1, Smc3, Scc1, SA) がリング状の複合体を形成し、このリング構造が、染色分体間をつなぎとめる機能に必須であることが分かっている。細胞分裂に際して、Scc1 タンパク質が切断されることでリングが開き、染色体が分配される。

4) ATP (アデノシン三リン酸) 加水分解 :

コヒーシンの Smc1 および Smc3 サブユニットは ATP 加水分解活性を有している。ATP が Smc1 または Smc3 に結合すると、ADP (アデノシン二リン酸) と Pi (リン酸) に分解される。これを ATP 加水分解活性という。コヒーシン複合体は、ATP の結合によって Smc1-Smc3 が閉じた構造に、加水分解されて外れると開いた構造になり、加水分解のサイクルによって開→閉を繰り返す。

5) Wapl-Pds5 :

Wapl と Pds5 はいずれも酵母からヒトまで高度に保存されたコヒーシン結合因子。Wapl と Pds5 が結合してヘテロ二量体を形成する。Wapl はコヒーシンを DNA から外す役割をもっており、Pds5 と Wapl の結合がその機能に重要である。

6) Smc3 のアセチル化 :

Smc3 サブユニットの保存されたリジン残基のアセチル化がコヒーシンの接着機能に必須である。研究チームの過去の研究で、Smc3 のアセチル化によって、接着に必須の因子 Sororin がコヒーシンに結合できるようになることが分かっている。

7) アフリカツメガエル卵抽出液 :

アフリカツメガエル (*Xenopus laevis*) の卵細胞質から調整した抽出液は、種々の細胞周期現象や染色体構築を試験管内で再現できることから、細胞周期研究、染色体研究にひろく使用される有用な系である。本研究では直鎖 DNA をクロマチン化 (DNA がヒストンに巻き付いた状態に) させたり、DNA 複製を誘起するために用いている。

8) クロマチン :

真核生物のゲノム DNA がヒストン (下記 9 参照) やその他の DNA 結合因子に結合して折りたたまれた状態のもの。この折りたたみによって、全長 2 m にもおよぶヒトのゲノム DNA が直径約 10 μ m の細胞核内に収納できるようになる。

9) ヒストン：

真核生物で高度に保存された DNA 結合因子。コアヒストン H2A、H2B、H3、H4 が 2 コピー会合して 8 量体を形成し、この複合体の周りに DNA が 1.65 回転（146 塩基対）巻き付くことで DNA の高度な折りたたみを可能にしている。

【論文名】

Cohesin acetylation and Wapl-Pds5 oppositely regulate translocation of cohesin along DNA.

DOI: [10.15252/emj.201695756](https://doi.org/10.15252/emj.201695756)