

令和 4 年 6 月 13 日現在

機関番号：34408

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2021

課題番号：17K15254

研究課題名(和文)アーキアにおける染色体高次構造変化を介した環境応答

研究課題名(英文) Responses to the environment via changes in higher-order chromosome structures in Archaea

研究代表者

円山 由郷 (Maruyama, Hugo)

大阪歯科大学・歯学部・助教

研究者番号：90610296

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：異なる染色体タンパク質を有する多様なアーキア種の染色体構造を比較することにより、染色体を構成するタンパク質の組み合わせによる染色体構築原理の違いを解析した結果、アーキアには、ヒストンまたはHTaをもちゲノムDNAがこれらタンパク質に巻き付いた基本構造を有するグループと、DNAがタンパク質に巻き付いた構造を有しないグループに大別されることが分かった。また、超好熱性アーキアが持つTrmBL2が、外来DNA獲得当初に遺伝子発現を抑制する、(バクテリアのH-NSと類似した)機能を有することを提唱した。これらの成果は、真核生物を含めた3ドメインにおける染色体構造の起源・進化を考察する上で重要である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

アーキアが極限環境だけではなく人体内や土壌中などの通常環境にも存在することや、アーキアとヒトの疾患との関連が明らかになりつつあり、アーキアの周辺環境に対する応答を理解する必要性が高まっている。本研究により、アーキアのシステムにより、多様な染色体構築原理が存在することが明らかとなった。真核生物の染色体構築システムは、アーキアのシステムを元に進化してきたと考えられている。特に、ヒストンを有するEuryarchaeota門のアーキアの染色体構築原理の解明を進めることは、真核細胞染色体の構造変化による環境応答を理解する助けとなる。

研究成果の概要(英文)：By comparing the chromosome structures of various Archaea species with different chromosomal proteins, we analyzed the differences in the principles of chromosome construction based on the combination of chromosomal proteins. The results showed that Archaea can be broadly classified into two groups: those with histones or HTa and a basic structure in which genomic DNA is wrapped around these proteins, and those without DNA wrapped around proteins. In addition, we proposed that TrmBL2 of hyperthermophilic Archaea has a function to repress gene expression at the time of foreign DNA acquisition (similar to that of bacterial H-NS). These results are important for considering the origin and evolution of chromosome structure in the three domains, including eukaryotes.

研究分野：微生物学

キーワード：アーキア 染色体高次構造 histone Alba TrmBL2 遺伝子水平伝播

## 1. 研究開始当初の背景

真核生物・細菌と並ぶ生命の第3ドメインであるアーキアは、真核生物型の転写・複製機構をもつ一方、遺伝子の発現調節に関しては、細菌型の転写因子によって単純にON/OFFされると考えられてきた。しかし近年、転写因子による調節にとどまらず、先招待高次構造を介した遺伝子発現調節の事例が蓄積されている。従来手法では、ゲノム情報からあるアーキアが染色体構築に用いるタンパク質は部分的に推測でき、また個々のタンパク質の機能解析も可能であったが、複数のタンパク質がどのように協調して染色体構造を構築し制御しているかは解析困難であった。

## 2. 研究の目的

本研究では、申請者が進めてきた超好熱性アーキア *Thermococcus kodakarensis* を中心とした染色体構築タンパク質の研究を進展させ、「**アーキアにおける染色体構造変化を介した環境応答**」機構を解明する。具体的には、異なる染色体タンパク質を有する多様なアーキア種の染色体構造(基本構造および高次構造)の共通点と相違点を明らかにし、アーキアの染色体構築の基本原理に迫ることを目的とする。

## 3. 研究の方法

### アーキア間の染色体構造の比較

異なる染色体タンパク質を有する多様なアーキア種の染色体構造を比較した。用いた種は、Euryarchaeota 門に属する *T. kodakarensis*、*Thermoplasma acidophilum*、および Crenarchaeota 門に属する *Sulfolobus solfataricus* と *Pyrobaculum calidifontis* である。原子間力顕微鏡 (AFM) を用いた高次構造解析、Microroccal nuclease アッセイによる染色体基本構造の解明、染色体精製と質量分析による染色体構成タンパク質の同定、といった手法を組み合わせるにより、各アーキアの染色体の基本構造と高次構造を明らかにし、種間の類似点と相違点を明らかにした。

### TrmBL2の生理的機能

TrmBL2が高度に保存されているにもかかわらず、その生理的機能は明確ではなかった。本研究では、TrmBL2単体に注目するのではなく、細胞内でも発現している他のタンパク質を含めた染色体上での結合位置と遺伝子発現の関係を解析する。超好熱性アーキア *T. kodakarensis* の場合、histone, Alba, TrmBL2が主要な染色体結合タンパク質である[1]。

## 4. 研究成果

アーキアの複数の種について、新たな染色体タンパク質の探索および機能解析を行うことで DNA 結合たんぱく質 Alba が染色体上で直径約 10nm のファイバー形成に寄与していること、バクテリアの HU と相同な *Thermoplasma acidophilum* の染色体タンパク質 HTa が直径約 6nm のビーズ構造を形成していることを示した。また、より高次の構造として、直径約 30-40 ナノメートルの粒子構造が染色体上に存在し、アーキアの染色体には Euryarchaeota と Crenarchaeota という2つの主要な門に共通して、段階的な高次構造が存

在することを明らかにした。また、増殖の進行に応じて 30-40nm 構造の割合が増加することから、染色体構造が周囲の環境に応じて変化を起こすことを示した。この成果により、真核生物・細菌・アーキアという 3 つのドメインにまたがって、染色体構造と機能を比較することが可能となった（図 1）。以上の研究成果を論文として発表した[2]。

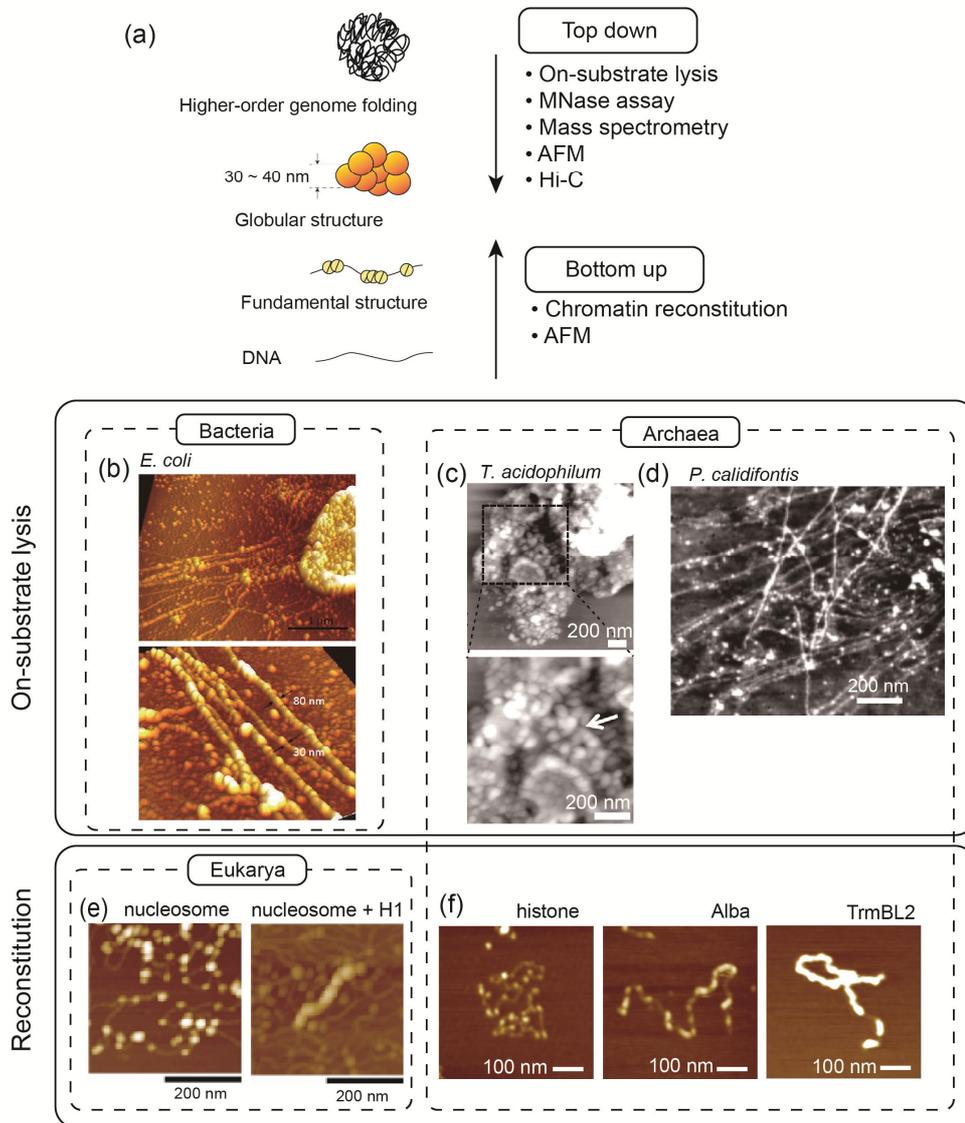


図 1

Euryarchaeota 門のアーキアは、histone をもつ種とバクテリアの HU に相同な HTa を持つ種があるが、ともに DNA を巻きつける基本構造を持つこと、そして Crenarchaeota 門の種は DNA を巻きつける基本構造を持たないことを提示した（図 2）。このことは、現在の真核生物の染色体構造の起源を考察する上で重要な成果である。本研究全体の成果を含めて、アーキアの染色体構造に関してこれまでに得られた知見を総説として発表した[3]。

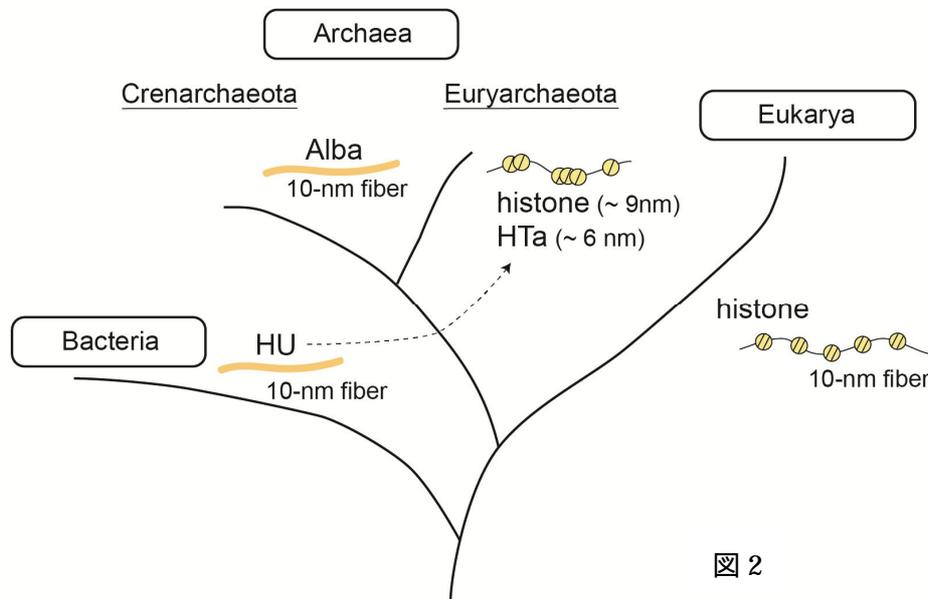


図 2

超好熱性アーキア *Thermococcus kodakarensis* の染色体タンパク質として同定していた TrmBL2 が、他のアーキアやバクテリアから水平伝搬した遺伝子の発現制御にかかわるなど未知の機能を有する可能性を示した。TrmBL2 は TrmB ファミリーの転写因子に含まれるが、例外的に、通常の転写因子のような特定の DNA 配列に結合する機能を有しない。また、原子間力顕微鏡に観察の結果 DNA 上にファイバー状の構造を形成すること、TrmBL2 破壊株の遺伝子発現解析により 100 近くの遺伝子の転写を抑制していることが分かった。一方アーキア型ヒストンは、真核型ヒストンと同様に明確な DNA 上の結合配列を有する (histone positioning signal)。以上のことから、このアーキアの染色体上では、まず histone の結合位置が優先的に決定され、histone の結合しない領域に TrmBL2 が結合し、その領域に存在する遺伝子の発現を抑制していると考えられる。Histone を持たない種(例えば Crenarchaeota 門のアーキア)から DNA 断片が水平伝播した場合、histone は優先的には結合せず(DNA 上に positioning signal がないため)、TrmBL2 が結合し、遺伝子発現を抑制できる(図 3)。このようにして、細胞にとって有害な可能性のある、水平伝播によって獲得した遺伝子を抑制するというモデルを提唱した[3]。この機能は、細菌の H-NS に類似しており、細菌とアーキアに共通の機能が存在することが示唆された。

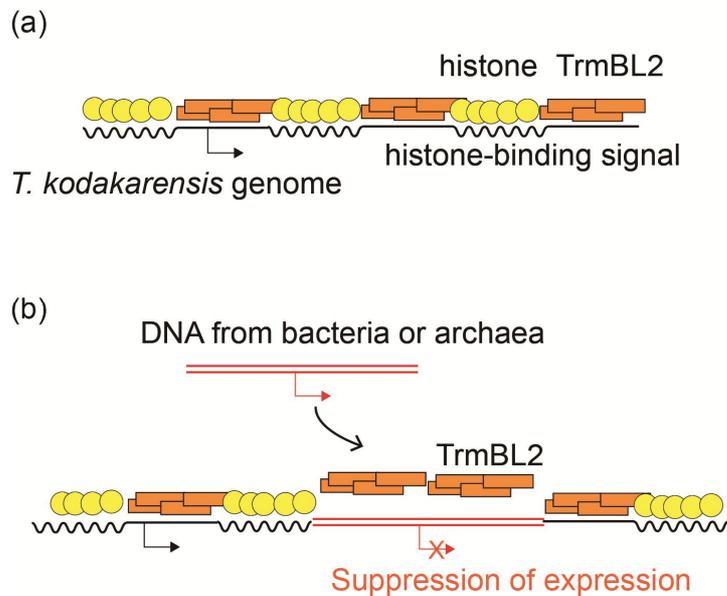


图 3

### 文献

1. Maruyama H, Shin M, Oda T, Matsumi R, Ohniwa RL, Itoh T, et al. Histone and TK0471/TrmBL2 form a novel heterogeneous genome architecture in the hyperthermophilic archaeon *Thermococcus kodakarensis*. *Mol Biol Cell*. 2011;22(3):386-98. Epub 2010/12/15. doi: 10.1091/mbc.E10-08-0668. PubMed PMID: 21148291; PubMed Central PMCID: PMC3031468.
2. Maruyama H, Prieto EI, Nambu T, Mashimo C, Kashiwagi K, Okinaga T, et al. Different Proteins Mediate Step-Wise Chromosome Architectures in *Thermoplasma acidophilum* and *Pyrobaculum calidifontis*. *Front Microbiol*. 2020;11:1247. Epub 2020/07/14. doi: 10.3389/fmicb.2020.01247. PubMed PMID: 32655523; PubMed Central PMCID: PMC7325993.
3. Maruyama H, Nambu T, Mashimo C, Okinaga T, Takeyasu K. Single-Molecule/Cell Analyses Reveal Principles of Genome-Folding Mechanisms in the Three Domains of Life. *Int J Mol Sci*. 2021;22(24). Epub 2021/12/25. doi: 10.3390/ijms222413432. PubMed PMID: 34948225; PubMed Central PMCID: PMC8707338.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Maruyama Hugo, Prieto Eloise I., Nambu Takayuki, Mashimo Chiho, Kashiwagi Kosuke, Okinaga Toshinori, Atomi Haruyuki, Takeyasu Kunio	4. 巻 11
2. 論文標題 Different Proteins Mediate Step-Wise Chromosome Architectures in <i>Thermoplasma acidophilum</i> and <i>Pyrobaculum calidifontis</i>	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Frontiers in Microbiology	6. 最初と最後の頁 1247
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fmicb.2020.01247	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1. 著者名 Maruyama Hugo, Nambu Takayuki, Mashimo Chiho, Okinaga Toshinori, Takeyasu Kunio	4. 巻 22
2. 論文標題 Single-Molecule/Cell Analyses Reveal Principles of Genome-Folding Mechanisms in the Three Domains of Life	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 13432
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ijms222413432	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 1件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 円山由郷
2. 発表標題 アーキアの染色体タンパク質と遺伝子水平伝播
3. 学会等名 2019年度 国立遺伝学研究所研究会「環境中のDNA循環」（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 円山由郷、大島拓、南部隆之、真下千穂、沖永敏則
2. 発表標題 アーキアにおける水平伝播遺伝子の発現抑制機構に関するモデル
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 円山由郷, 南部隆之, 真下千穂, 沖永敏則, 川添堯彬.
2. 発表標題 ゲノム解析から明らかとなった口腔細菌叢バランスに関わる因子
3. 学会等名 第8回臨床ゲノム医療学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 円山由郷, 南部隆之, 真下千穂, 沖永敏則.
2. 発表標題 アーキアにおける染色体構築機構の種間比較
3. 学会等名 第60回歯科基礎医学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Maruyama H, Nambu T, Mashimo C, Atomi H, Takeyasu K
2. 発表標題 The roles of TrmBL2 protein on chromosome architecture and protection in <i>Thermococcus kodakarensis</i> .
3. 学会等名 Gordon Research Conferences. Archaeae; Ecology, Metabolism and Molecular Biology (国際学会)
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計3件

1. 著者名 Maruyama H, Kent NA, Nishida H, Oshima T.	4. 発行年 2019年
2. 出版社 Springer Singapore	5. 総ページ数 278 (pp. 29-45)
3. 書名 Functions of archaeal nucleoid proteins: Archaeal silencers are still missing. In: Nishida H, Oshima T, editors. DNA Traffic in the Environment.	

1. 著者名 Ohniwa RL, Maruyama H, Morikawa K, Takeyasu K. New York	4. 発行年 2018年
2. 出版社 Springer New York	5. 総ページ数 419 (pp. 147-160)
3. 書名 Atomic force microscopy imaging and analysis of prokaryotic genome organization. In: Dame RT, editor. Bacterial Chromatin: Methods and Protocols.	

1. 著者名 Maruyama H	4. 発行年 2021年
2. 出版社 Humana New York	5. 総ページ数 327
3. 書名 Micrococcal nuclease assays for the analysis of chromosome structure in Archaea. In: Peeters E, Bervoets I, editors. Prokaryotic Gene Regulation	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	大島 拓 (Oshima Taku)	富山県立大学  (23201)	
研究協力者	跡見 晴幸 (Atomi Haruyuki)	京都大学  (14301)	
研究協力者	松見 理恵 (Matsumi Rie)	九州大学  (17102)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	東端 啓貴  (Higashibata Hiroki)	東洋大学  (32663)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関