

令和 4 年 6 月 6 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18K06051

研究課題名(和文) 配偶核形成にて発見した新奇なゲノム切断(DSB)が誘発するクロマチン再構築の研究

研究課題名(英文) Molecular mechanisms of chromatin remodeling for the gamete-nuclei formation in *Tetrahymena thermophila*

研究代表者

福田 康弘 (Yasuhiro, Fukuda)

東北大学・農学研究科・助教

研究者番号：50527794

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)：繊毛虫テトラヒメナの配偶核形成では、新奇な DNA 切断が誘発するクロマチン再編成が起こり、ゲノムがユークロマチン化する。DNA 切断に誘発される配偶子前核のゲノムのユークロマチン化は進化的に保存された現象らしく、線毛虫のみならず、ヒトなどの高等動物でも起こるが、その分子機構には不明なところが多い。本研究は、配偶子前核のゲノムのユークロマチン化に関わるクロマチン再構成因子と、配偶子前核のゲノムのユークロマチン化に伴うエピゲノムな状態の変化の 2 点に着目して解析を進め、クロマチン再編成に関わるタンパク質を同定し、それらのタンパク質の働きを制御するシステムの一部を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

DNA 切断によって誘発されるクロマチンリモデリングは、様々な生物の配偶核形成において観察されている。このクロマチンリモデリングは、配偶核が次世代を作るための全能性の獲得に関わると考えられているが、そのメカニズムは明らかになった。本研究では、テトラヒメナの配偶核形成で起こるクロマチンリモデリングに携わる分子の特定などの成果を得た。この成果は、ヒトを含む様々な生物における配偶核形成のクロマチンリモデリングを紐解く重要な手がかりになり、また再生医療や生殖医療の発展にも繋がる基礎的知見をもたらす。

研究成果の概要(英文)：In the ciliate *Tetrahymena*, the gamete-nuclei formation involves chromatin remodeling induced by a novel DNA double-strand break at the post-meiosis stage. Chromatin remodeling in the pronucleus during the gamete-nuclei formation is an evolutionarily conserved phenomenon. This occurs not only in ciliate but also in animals such as humans. However, the molecular mechanism of this phenomenon has been obscure. This study focused on the chromatin remodelers involved in the euchromatin formation for the gamete-nuclear formation and the changes in the epigenomic state associated with the gamete-nuclear formation. We identified some proteins involved in euchromatin formation and unclosed some parts in the system that controls it.

研究分野：分子細胞生物学, 進化生物学, 原生物学

キーワード：クロマチンリモデリング ゲノム テトラヒメナ 配偶核形成

1. 研究開始当初の背景

ゾウリムシやテトラヒメナで知られる原生生物・繊毛虫は、小核と大核という 2 種類の核を 1 つの細胞内にもつ。小核は転写活性をもたず、有性生殖を経て繊毛虫の全ゲノム情報を子孫へ伝える生殖系に相当する。対する大核は、再配列と多倍数体化したゲノムをもち、遺伝子発現へ特化することから、細胞の増殖と維持を担う体細胞系として働く。つまり繊毛虫は、核を遺伝的・機能的に分化させることで、単一の細胞質内に体細胞系と生殖系へ分化した体制を確立した。繊毛虫は、接合とよばれる有性生殖を行う。この過程で小核と大核が受精核から分化する。性の異なる細胞がペアを作ると、小核は減数分裂して 4 つの半数体核を作る。それらのうち選択された 1 核(選択核)が配偶核へと発達し、他の 3 核は分解される。配偶核は、有糸分裂を行い 2 核となり、1 つがペア間で交換されて受精し、やがて新世代の小核と大核へ分化する。

半数体核から配偶核が形成される過程では、ゲノム DNA の切断と修復が起こる。まず減数分裂から生じた 4 つ全ての半数体核のゲノムが切断され、やがて選択された選択核のみが DNA 修復を受ける。これまでの解析から、DNA 切断と修復を経た選択核においてユークロマチン化を伴うクロマチンリモデリングが起こること、さらにクロマチンリモデリングは配偶核形成に必須であることが明らかになってきたが、その機構については明らかになっていなかった。

2. 研究の目的

減数分裂後の半数体核ゲノムに生じる DNA 切断は、選択核にクロマチンリモデリングを誘発する。このクロマチンリモデリングは配偶核形成に関わる極めて重要なイベントである。本研究は、1) 選択核が受ける配偶核へと変化する過程で経るクロマチンリモデリングの分子機構と、2) クロマチンリモデリングを経た配偶核のゲノムが備える質的な特徴を明らかにすることを目的に据えた。

3. 研究の方法

配偶核となる選択核が受けるクロマチンリモデリングのメカニズムを解明するため、まずクロマチン再構築に関連することが知られているタンパク質のホモログ連遺伝子をテトラヒメナのゲノムからピックアップした。この候補遺伝子について、すべて蛍光タグ融合タンパク質発現細胞を作製し、局在を解析して配偶核形成への関与を検証した。配偶核形成への関与が示唆されたクロマチンリモデリング因子は、その欠損株を作製し、その機能性を検証した。また共免疫沈降法を用いて、配偶核形成に関与するクロマチンリモデリング因子のパートナーの特定を試みた。また配偶核形成を通じたヒストン修飾の変化を調べ、クロマチンリモデリングを経た配偶核の特徴を明らかにした。

4. 研究成果

まず Snf2 ファミリータンパク質に着目し、テトラヒメナのゲノムには少なくとも 13 種類の Snf2 ファミリータンパク質がコードされていることを明らかにした。これら全てについて有性生殖での局在を追跡したところ、Rad グループと Snf2 グループに属する 5 種類が配偶核形成時のクロマチンリモデリングに関与することが分かり、さらにノックア

ウト株を用いた詳しい機能解析から、Rad グループと Snf2 グループに属する 2 種類がとくに重要な役割を果たしていることが明らかになった。またクロマチンリモデリング因子の機能不全が選択核の DNA 修復にも影響を及ぼしたことから、少なくとも Snf2 ファミリータンパク質が介在するクロマチンリモデリングは、DNA 修復と一体的に制御された現象であることが明らかになった。また、様々なヒストン修飾特異的抗体を用いて配偶核形成におけるヒストンの修飾変化を調べ、これをカタログ化した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Iwamoto Masaaki, Fukuda Yasuhiro, Osakada Hiroko, Mori Chie, Hiraoka Yasushi, Haraguchi Tokuko	4. 巻 1
2. 論文標題 Identification of the evolutionarily conserved nuclear envelope proteins Lem2 and MicLem2 in <i>Tetrahymena thermophila</i>	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Gene: X	6. 最初と最後の頁 100006 ~ 100006
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.gene.2019.100006	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6件（うち招待講演 1件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 福田康弘, 明松隆彦, 岩本政明, 伴戸寛徳, 加藤健太郎
2. 発表標題 Role of Snf2-like protein in the formation of bivalent chromosomes of <i>Tetrahymena thermophila</i>
3. 学会等名 第 44 回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 福田康弘, 明松隆彦, 岩本政明, 伴戸寛徳, 加藤健太郎
2. 発表標題 テトラヒメナの二価染色体形成における減数第一分裂前期特異的タンパク質 Mep1 の役割
3. 学会等名 第 54 回 日本原生生物学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 福田康弘
2. 発表標題 織毛虫テトラヒメナの配偶核形成から発見された新奇な DNA 二本鎖切断 (DSB) と、その機能的意義
3. 学会等名 第 43 回日本分子生物学会年会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 福田 康弘, 岩本 政明, 伴戸 寛徳, 加藤 健太郎
2. 発表標題 減数第 1 分裂前期において特異的な機能をもつテトラヒメナの Snf2 クロマチン再構成酵素
3. 学会等名 第52回日本原生生物学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 福田 康弘 明松 隆彦 多田 千佳 中井 裕
2. 発表標題 絨毛虫テトラヒメナの配偶核形成に関するクロマチン再構成因子の探索
3. 学会等名 第41回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 福田 康弘 明松 隆彦 多田 千佳 中井 裕
2. 発表標題 絨毛虫テトラヒメナの配偶核形成に関わるクロマチン再構成因子の探索
3. 学会等名 第51回日本原生生物学会大会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔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
---------------------------	-----------------------	----

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			
オーストリア	University of Vienna			
カナダ	York University			