

令和 6 年 6 月 3 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K06012

研究課題名（和文）非B型DNAの核内における生成と制御：ゲノムワイド解析によるアプローチ

研究課題名（英文）Generation and control of non-B form DNA in the nucleus: a genome-wide approach

研究代表者

須谷 尚史（Sutani, Takashi）

東京大学・定量生命科学研究所・准教授

研究者番号：30401524

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、細胞核内のDNA鎖に生じるよじれを細胞が認識・処理する仕組みを明らかにしました。Smc5/6タンパク質複合体が結合しているゲノムDNA上の部位は、正の超らせんと呼ばれるDNAのよじれが蓄積している箇所であることを、分子生物学実験と数理モデリングを組み合わせることで明らかにしました。Smc5/6がゲノムの維持に必須な因子であることから、DNA鎖のよじれをうまく処理できないと細胞にとって致命的な結末をもたらすことが想像されます。この結果は、がんや細胞老化がどのようなメカニズムで起きるかの理解に貢献することが期待されます。

研究成果の学術的意義や社会的意義

遺伝子転写によってDNA鎖に正の超らせんというよじれが生じることは古くから知られていました。本研究は、正の超らせんを認識するタンパク質が細胞核中に存在すること、正の超らせんへの適切な対処がなされないことで核内DNAが不安定になる可能性があることを示した点に意義があります。本研究を契機にDNA鎖のよじれに着目した研究が活発化することが期待されます。Smc5/6複合体はがんの発生や老化を防ぐ役割をもつことがマウスの実験で示されています。本研究成果は、医学的観点からも興味深い対象であるSmc5/6複合体について、その理解を大きく前進させるものだと考えられます。

研究成果の概要（英文）：In this study, we have identified a mechanism by which cells recognise and process kinks in the DNA strand in the cell nucleus. A combination of molecular biology experiments and mathematical modelling revealed that the Smc5/6 protein complex binding sites in the genome DNA are the sites where the DNA kinks called positive supercoiling are accumulated. As Smc5/6 is essential for genome maintenance, it is postulated that failure to deal with the kinks in the DNA strand can have lethal consequences for the cell. The results are expected to contribute to our understanding of the mechanisms by which cancer and cellular senescence occur.

研究分野：分子生物学、ゲノム学

キーワード：ゲノム ゲノム維持 SMC複合体 正の超らせんDNA 数理モデル

1. 研究開始当初の背景

ゲノム上には正常な形状でない DNA (非 B 型 DNA) が生じることがあり、非 B 型 DNA はゲノムの不安定性の要因となると考えられている。非 B 型 DNA には例えば R-loop や G4 四重鎖などがある。これらはその存在がよく知られ、研究も進んできている。しかし、非 B 型 DNA を検出する方法はまだ発展途上であり、他にどのような種類の非 B 型 DNA があるのか網羅的に理解することはできていなかった。また、それに付随して、非 B 型 DNA はどのようにして生成するのか、細胞は非 B 型 DNA に由来するゲノム不安定性にどのように対応しているのか、についてもその全貌は未解明のままであった。

2. 研究の目的

本研究では、R-loop や G4 四重鎖以外の非 B 型 DNA にどのような種類があるのか、ゲノム上のどこに存在するのか、なぜ生成するのか、細胞はそれらの非 B 型 DNA に由来するゲノム不安定性にどのように対応しているのか、といった疑問に答えることを目的として研究をおこなった。

3. 研究の方法

以下の2つのアプローチをとった。1つ目は、幅広い種類の非 B 型 DNA を検出することのできる解析手法の確立をまず目指した。DNA 鎖の歪みを認識するヌクレアーゼを活用することでこの目的を達成しようとした。2つ目のアプローチは、遺伝学からゲノム維持機構に機能することが示唆される DNA 結合因子を端緒とし、この因子が認識するゲノム箇所の特徴を見出すことを目指した。この方法で新しい(そしてゲノム不安定性に密接に関係する)非 B 型 DNA を発見できることが期待できた。

4. 研究成果

1つ目のアプローチからは、期待していた成果を上げることができなかった。想定していなかった技術上の問題点が多く現れ、十分解決することができなかった。しかし、2つ目のアプローチはうまく進展し、成果を上げることができた。

ゲノム維持機構に必須な因子である「Smc5/6 複合体」を対象とした研究を遂行した。この Smc5/6 に関する研究は、スウェーデン・カロリンスカ研究所の Björkegren 教授らとの共同研究として遂行された。Smc5/6 複合体は、細胞核内の DNA の折りたたみを担う SMC 複合体の一つとして知られる。Smc5/6 複合体が機能しない細胞では核内 DNA が不安定になり、無用な組み換え反応を起こして欠失や転座などの構造的変異を引き起こしやすくなることが知られている。すなわち、Smc5/6 複合体はゲノム維持機構に必要な因子であるといえる。しかし、Smc5/6 複合体はどのような DNA 上の問題に対処する因子として機能するのかについては全く不明であった。

出芽酵母野生株中で Smc5/6 の ChIP-seq 解析を行なったところ、Smc5/6 のゲノム上での結合には濃淡があることが見出された。この結合プロファイルは再現性の高いものであった。結合の強い部位は、遺伝子の間の領域 (intergenic region, IGR) と一致していたが、ゲノム中に 6000 以上存在する IGR のうちごく一部のみしか結合は見られなかった。結合部位どのような特性があるかを理解するため、情報学的解析を行なった。ゲノム上のそれぞれの IGR の特徴を 47 の指標で評価し、Smc5/6 結合強度との相関を調べた (図 1)。いずれの指標もそれ単独では良い相関を示すことはなかった。しかし、全ての指標を取り入れた定量的数理モデルを機械学習 (ランダムフォレスト法による) で作成したところ、モデルの予測値は実際の結合値と良い相関 ( $\rho = 0.78$ ) 示すことが見出された (図 2)。考慮している IGR の特徴量には、Smc5/6 結合量を決定



図 1 Smc6結合プロファイルの数理モデリング

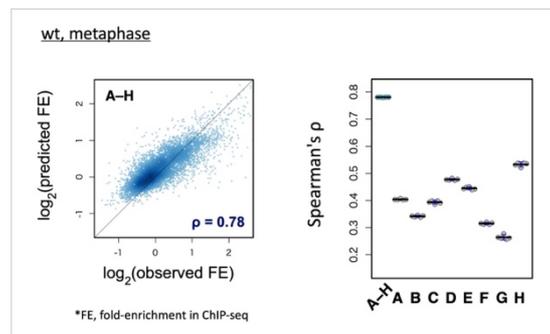


図 2 全ての特微量を入力とすると、Smc6結合プロファイルが精度良く予測できた

するのに十分な情報が含まれていることが示唆された。そこで、モデル構築に用いる特微量の数を狭めてゆき、予測に必要な最小限の特微量のセットを見つけることを試みた。その結果、9つ

の特徴量を用いることで十分精度の良い予測が可能になったことがわかった (図3)。見つかった要因は全て、転写に起因する DNA の正の超らせんの蓄積が Smc5/6 結合と関係することを示唆していた。ゲノム上での遺伝子の転写は、その下流に正の超らせんと呼ばれる DNA 鎖の歪み (すなわち非 B 型 DNA) を引き起こすことが知られている。Smc5/6 複合体は、この正の超らせんが解消されにくい条件が重なるような部位に結合することが見出された (図4)。このモデルを実験的に検証することにも成功した。すなわち、Smc5/6 の結合は転写の阻害剤を加えた細胞では減弱し、また超らせんを解消する酵素である Top1, Top2 を欠く条件下では増強した。正の超らせん状態にあるゲノム領域はゲノム不安定性の原因となること、Smc5/6 複合体はこの状態を解消するために機能していることを強く示唆する結果が得られたと考えられる。

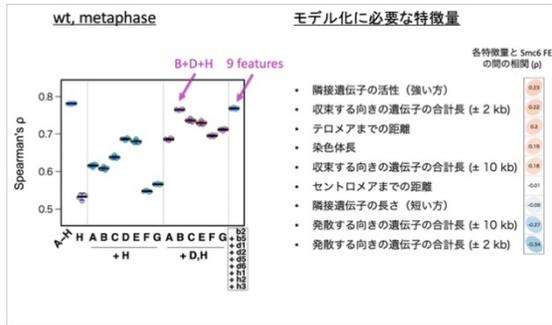


図3 特徴量抽出により正確なモデル化に必要な9つの特徴量が分かった



図4 Smc5/6 結合部位の性質

遺伝子転写によって DNA 鎖に正の超らせんというよじれが生じることは古くから知られていた。本研究は、正の超らせんを認識するタンパク質が細胞核中に存在すること、正の超らせんへの適切な対処がなされないことで核内 DNA が不安定になる可能性があることを示した点に意義がある。なお、正の超らせん状態の蓄積がどのようにゲノム不安定性に繋がるのかは、今後の研究課題である。本研究を契機に DNA 鎖のよじれに着目した研究が活発化することが期待される。Smc5/6 複合体はがんの発生や老化を防ぐ役割をもつことがマウスの実験で示されている。また、ある種のウイルスの細胞内での増殖を防ぐ役割も報告されている。本研究成果は、医学的観点からも興味深い対象である Smc5/6 複合体について、その理解を大きく前進させるものだと考えられる。

なお、この Smc5/6 に関する研究の成果は、Molecular Cell 誌に発表することができている (Mol Cell (2024) 84:867-882. e5, DOI: 10.1016/j.molcel.2024.01.005)。

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 1件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Jeppsson Kristian, Pradhan Biswajit, Sutani Takashi, Sakata Toyonori, Ueda Igarashi Miki, Berta Davide Giorgio, Kanno Takaharu, Nakato Ryuichiro, Shirahige Katsuhiko, Kim Eugene, Bjorkegren Camilla	4. 巻 84
2. 論文標題 Loop-extruding Smc5/6 organizes transcription-induced positive DNA supercoils	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Molecular Cell	6. 最初と最後の頁 867 ~ 882.e5
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.molcel.2024.01.005	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

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 須谷尚史, Kristian Jeppsson, Camilla Bjorkegren, 白髭克彦
2. 発表標題 Smc5/6複合体の染色体結合部位は正のDNA超らせんが蓄積する性質を備えている
3. 学会等名 第45回分子生物学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 須谷尚史, Kristian Jeppsson, Tianyu Deng, Camilla Bjorkegren, 白髭克彦
2. 発表標題 ゲノム安定性に機能するSmc5/6複合体は正の超らせん状態にあるDNAに結合する
3. 学会等名 第41回染色体ワークショップ・第22回核ダイナミクス研究会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 Takashi Sutani, Kristian Jeppsson, Camilla Bjorkegren, Katsuhiko Shirahige
2. 発表標題 Chromosomal binding sites of Smc5/6 complex have the property of accumulation of positive DNA supercoiling
3. 学会等名 RIKEN international symposium on nuclear structure and function (国際学会)
4. 発表年 2024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
---------	---------