

令和 6 年 5 月 27 日現在

機関番号：82401

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K06027

研究課題名（和文）間期染色体構築におけるコンデンシンIIからコヒーシンへの機能継承

研究課題名（英文）Functional handover from condensin II to cohesin during the establishment of interphase chromosome architecture

研究代表者

小野 教夫（Ono, Takao）

国立研究開発法人理化学研究所・開拓研究本部・専任研究員

研究者番号：20291172

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,700,000円

研究成果の概要（和文）：間期のセントロメアの再配置を含む染色体構造（染色体テリトリー）の確立には、細胞が分裂期からG1期に進行する過程で、コンデンシンIIからコヒーシンへの“機能継承”によるステージ特異的な染色体構造変換の引き継ぎが必要であることを明らかにした。さらに、コンデンシンIIとコヒーシンはG2期で、異なる階層の構造維持を分担しているが、それらの“協調作用”によって染色体テリトリー全体の構造が維持されていることを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

間期染色体構造に対するコンデンシンIIとコヒーシンの役割に関しては、これまでに多くの報告があるが統一的理解が得られていなかった。本研究では、コンデンシンIIとコヒーシンの同時除去の欠損表現型を細胞周期のステージで解析し、これまで知られていなかった役割を見出した。申請者の従前の研究では、S期のコンデンシンIIとコヒーシンの拮抗作用を報告しており（Ono et al., J Cell Biol. 200:429-441,2013）、これらは染色体構造に対して、細胞周期ステージに応じた異なる関与することを明らかにした点で本研究は学術的意義がある。

研究成果の概要（英文）：The establishment of interphase chromosome structure (chromosome territories), including the rearrangement of centromeres, requires the inheritance of stage-specific chromosome structural conversion by "functional handover" from condensin II to cohesin as cells progress from mitosis into G1 phase. Furthermore, condensin II and cohesin share the maintenance of different scales of chromosome structure in G2 phase, and their "collaborative action" contributes to the structure of the whole chromosome territory.

研究分野：分子細胞遺伝学

キーワード：コンデンシンII コヒーシン 染色体テリトリー セントロメア クロマチン構造 細胞周期

## 1. 研究開始当初の背景

複製された遺伝情報を正しく娘細胞に分配するためには、その情報を担う分裂期染色体が適切に構築されなければならない。この点については最近の研究により大きく理解が進んでいる。しかし、この分裂期染色体が娘細胞に分配された後、どのようにして間期核に収納され、染色体テリトリーと呼ばれる構造に変換されるのかという点については、我々の知識は未だ乏しい。

真核細胞において、分裂期染色体の構築には2つのコンデンシン、コンデンシンⅠとコンデンシンⅡが中心的な役割を果たす。興味深いことに、染色体分配が完了するとコンデンシンⅠは染色体から外れて核外に排出される一方、コンデンシンⅡは染色体上もしくは核内に局在し続ける。このことから、コンデンシンⅡは分裂期染色体だけでなく、間期染色体の構造確立にも関与することが予想されてきた。一方で、間期核内の染色体構造にはコンデンシンとよく似た分子構造をもつコヒーシンが大きく貢献していることがよく知られている。コヒーシンが除去された細胞では適切なループ構造が形成できず、局所的なクロマチン構造が大きく乱れる。しかし、染色体テリトリー構造への貢献は曖昧なままだった。

本研究を開始する直前に、コンデンシンⅡが除去された細胞が分裂期を通過すると、次のG1期核内のセントロメアが適切に再配置(分散)されないという観察が報告された(Hoencamp et al., *Science* 372, 984-989, 2021)。これとは独立に申請者らは、分裂期に束ねられていたセントロメアが核内に分散する時期が、コヒーシンが染色体に結合を開始する時期と一致することを見出していた。これらの知見から、分裂期直後のセントロメアの分散には、染色体上で、コンデンシンⅡとコヒーシンが適切に入れ替わること、すなわち“機能継承”が必要であると考えられた。しかし、この“機能継承”の実体は不明だった。

## 2. 研究の目的

本研究目的は、(1) G1期のセントロメアの分散と、(2) その分散の背後にある分裂期染色体から間期染色体への構造変換の過程で、コンデンシンⅡおよびコヒーシンがどのような役割をもつのか明らかにすることである。この解析を通じて、染色体テリトリーの確立に必要なと考えられる、コンデンシンⅡからコヒーシンへの“機能継承”の実体を炙り出す。

次に、(3) G2期核内の染色体テリトリーの維持において、コンデンシンⅡとコヒーシンがどのような役割をもつのかを明らかにする。これは、一旦確立した間期染色体構造の維持という視点からの解析で、上述のG1期における染色体構造の確立と対比される。そして、得られた知見を統合し、細胞周期進行に伴った染色体サイクルにおける、コンデンシンⅡとコヒーシンの役割を統合的に理解することを目指す。

## 3. 研究の方法

本研究では細胞周期のステージ特異的な染色体の構造変化におけるコンデンシンⅡとコヒーシンの役割を解析する。このため、対象となるタンパク質を任意のステージで迅速に除去・分解する系が必須である。申請者は既に樹立されている、コンデンシンⅡ、コヒーシンをそれぞれ除去できるヒト由来のAID(auxin-inducible degron)細胞株に加え、これら両方を除去できる細胞株を自ら樹立した。さらに、これらの細胞株にセントロメアに蛍光タグを付したCENP-Aをゲノム編集により導入し、分裂期直後のセントロメアの核内配置の解析に用いた。

### (1) G1期(分裂期直後)のセントロメア動態の解析

分裂期からG1期への進行の間にかかるコンデンシンⅡからコヒーシンへの機能継承の実体を解析するために、AID細胞でタンパク質の除去を行いつつ分裂期を進行させ、G1期に到達した時点でセントロメアを検出し、核内配置を定量的に解析した。同時に変化していることが予想されるテロメアの位置もFISHにより検出し、核内の染色体の形態と配置を予測した。

### (2) G1期(分裂期直後)の染色体テリトリーの解析

セントロメアの配置に大きく関連すると考えられる染色体テリトリーを解析するため、前項と同様にタンパク質の除去を行ったG1期のAID細胞の染色体の形態を解析した。染色体の可視化にはWhole-chromosome FISH法をもちいた。特異的な染色体を検出して得られたFISH画像をもちいて、そのテリトリーの形態、核内配置を定量的に解析した。また染色体テリトリーの形態変化の特徴を明確にするため、必要に応じて、部位特異的なFISHプローブをもちいた解析を並行して行った。

### (3) G2期の染色体テリトリーの解析

染色体テリトリーが確立されるG1期と対比させるため、本研究では、一旦確立された染色体テリトリーに対するコンデンシンIIとコヒーシンの貢献にも着目した。この解析のため、G2期に同調したAID細胞でタンパク質を除去した後、Whole-chromosome FISHと部位特異的なFISHプローブを組み合わせて染色体構造を検出した。前項と同様に、得られたFISH画像をもちいて定量的解析を行った。

## 4. 研究成果

### (1) 分裂期直後のセントロメア動態の解析

コンデンシンIIを分裂期に除去すると、染色体分配は完了するがG1期核内でセントロメアが互いに近接したままで適切に分散しない。本研究ではこれをライブ観察で捉えることに成功した。さらに、この条件下のテロメアはG1期核のセントロメアが集まる領域と反対側に集まる傾向を見出した。これらの結果は、コンデンシンIIを除去したG1期細胞では、棒状の分裂期染色体が球状のテリトリーに変換されておらず、コンデンシンIIを持たない生物種でみられる染色体のRabl構造とよく似ていることが予想された。一方、コヒーシン除去ではこの異常は起こらないことを明らかにした。さらに興味深いことに、コンデンシンII除去で見られたセントロメアとテロメアの核内分散の異常は、コヒーシン除去を同時に行うことで部分的に回復した。この結果を正しく理解するには、セントロメアの配置異常の背後で起こっていると予想される染色体構造(染色体テリトリー)の変化を詳しく解析する必要があると考えられた。

### (2) G1期(分裂期直後)の染色体テリトリーの解析

上記のセントロメアの分散異常を起こした細胞における染色体構造(染色体テリトリー)の変化を解析した。その結果、分裂期にコンデンシンIIを除去すると、次のG1期核内で染色体は棒状のまま縦軸に長く伸びていることを定量的に示すことに成功した。一方、コヒーシンを除去してもこの形態変化は起こらなかった。コンデンシンIIとコヒーシンの両方を同時に除去した細胞では、コンデンシンII単独除去細胞とは異なり、G1期核内でテリトリーは大きく膨らみ、不規則な形態を示すことが分かった。したがって、前項で述べたコンデンシンIIとコヒーシンの同時除去でセントロメアの分散が部分的に回復したように見えたのは、決して正常な染色体テリトリーが形成されたからではなく、染色体(テリトリー)の形態が不規則に乱れた結果であることを示唆する。これらの結果から、分裂期からG1期の染色体テリトリーの確立には、コンデンシンIIとコヒーシンのどちらも必要であり、本研究で提唱する“機能継承”の実体は、“ステージ特異的な染色体構造変換の引き継ぎ”であることが強く示唆された。

### (3) G2期の染色体テリトリーの解析

この時期の染色体構造を、局所的クロマチン構造(1 Mb レベル)と中間的腕部構造(20 Mb レベル)に分け、それぞれの構造に対するコンデンシンIIとコヒーシンの貢献を調べた。G2期に同調した細胞からコンデンシンIIを除去すると中間的腕部構造のみが変化した。一方、コヒーシンを除去すると、局所的クロマチン構造のみが変化した。コンデンシンIIとコヒーシンの両方を除去すると、それぞれの欠損が共に観察された。したがって、コンデンシンIIとコヒーシンはそれぞれ別のスケール(階層)の構造維持に貢献していることが分かった。一方、コンデンシンIIとコヒーシンをそれぞれ単独で除去しても、テリトリーすなわち染色体全体の形態には大きな異常は観察されなかった。ところが、コンデンシンIIとコヒーシンの両方を同時に除去すると、本来のテリトリーからかけ離れた異常な形態と核内配置の乱れが出現し、相同対となる染色体の分離、すなわち染色体の個別化が著しく低下した。これらの結果は、コンデンシンIIとコヒーシンは異なる階層の構造維持を分担していることに加え、それらの“協調作用”によって染色体テリトリー全体の構造が維持されていることを強く示唆する。

これらの研究成果は、「コンデンシンIIとコヒーシンは、細胞周期のそれぞれのステージに応じた異なる方法で染色体構造に関与している」ことを示唆し、統合的に染色体サイクルを理解することに大きく貢献するものである。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 小野教夫、高木昌俊、田辺秀之、藤田知子、斉藤典子、平野達也
2. 発表標題 間期染色体構造の維持におけるコンデンシンIIの役割
3. 学会等名 第74回染色体学会年会：口頭発表（オンライン）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 小野教夫、高木昌俊、田辺秀之、藤田知子、斉藤典子、平野達也
2. 発表標題 間期染色体構造の確立と維持における コンデンシンIIとコヒーシンの役割
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：口頭発表（小田原）
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 小野教夫、高木昌俊、平野達也
2. 発表標題 コンデンシン II は分裂期直後のグローバルな染色体テリトリーの確立に貢献する
3. 学会等名 染色体学会 第73回年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 小野教夫、高木昌俊、平野達也
2. 発表標題 分裂期直後にコンデンシンIIが制御する間期染色体構築
3. 学会等名 染色体学会 第72回年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 間期染色体構築における分裂期直後のコンデンシンIIからコヒーシンへの機能継承
2. 発表標題 小野教夫, 高木昌俊, 平野達也
3. 学会等名 日本分子生物学会 第44回年会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>研究室ホームページ 理化学研究所 平野染色体ダイナミクス研究室ホームページ <a href="http://www2.riken.jp/chromdyna/">http://www2.riken.jp/chromdyna/</a></p> <p>画像提供 フリー百科事典ウィキペディア「染色体」 <a href="https://ja.wikipedia.org/wiki/%E6%9F%93%E8%89%B2%E4%BD%93">https://ja.wikipedia.org/wiki/%E6%9F%93%E8%89%B2%E4%BD%93</a> フリー百科事典ウィキペディア「姉妹染色分体」 <a href="https://ja.wikipedia.org/wiki/%E6%9F%93%E8%89%B2%E4%BD%93">https://ja.wikipedia.org/wiki/%E6%9F%93%E8%89%B2%E4%BD%93</a> フリー百科事典ウィキペディア「染色体凝縮」 <a href="https://ja.wikipedia.org/wiki/%E6%9F%93%E8%89%B2%E4%BD%93%E5%87%9D%E7%B8%AE">https://ja.wikipedia.org/wiki/%E6%9F%93%E8%89%B2%E4%BD%93%E5%87%9D%E7%B8%AE</a> フリー百科事典ウィキペディア「コンデンシン」 <a href="https://ja.wikipedia.org/wiki/%E3%82%B3%E3%83%B3%E3%83%87%E3%83%B3%E3%82%B7%E3%83%B3">https://ja.wikipedia.org/wiki/%E3%82%B3%E3%83%B3%E3%83%87%E3%83%B3%E3%82%B7%E3%83%B3</a></p>
--

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
---------	---------