

令和 6 年 5 月 3 1 日現在

機関番号： 1 4 3 0 1

研究種目： 研究活動スタート支援

研究期間： 2021 ~ 2023

課題番号： 2 1 K 2 0 6 3 6

研究課題名（和文）アーキアから探るSMC複合体の進化

研究課題名（英文）Evolution of the SMC complex: insight from archaea

研究代表者

竹俣 直道（Takemata, Naomichi）

京都大学・工学研究科・助教

研究者番号： 4 0 8 8 3 8 3 0

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,400,000 円

研究成果の概要（和文）：超好熱性アーキア *Thermococcus kodakarensis* をモデルとしてアーキア SMC 複合体の機能解析を行なった。3C-seq と遺伝子破壊系を用いた実験から、*T. kodakarensis* の SMC 複合体が Smc、ScpA、ScpB からなる 3 成分系複合体として機能することが示唆された。この結果は、先行研究で行われた *in vitro* 相互作用実験の結果から予想されたモデルとは異なる結果であった。また、*T. kodakarensis* の SMC 複合体は、核様体結合タンパク質である TrmBL2 と協調して機能することで染色体ドメイン構造を形成することがわかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

真核生物では、SMC 複合体は特定の DNA 結合タンパク質と協調して働くことで TAD と呼ばれる染色体ドメイン構造を形成し、遺伝子発現などを制御している。本研究成果は真核型の TAD 形成機構の雛形がアーキアにも存在することを示唆するものであり、染色体高次構造の進化を考える上で重要な知見をもたらすと期待される。また、本研究で用いた *T. kodakarensis* は、バイオマス的一种であるキチンを代謝してキチンを産生することができる。アーキアにおける染色体ドメインの機能研究が本研究を契機に進展すれば、得られた知見を応用することで *T. kodakarensis* の水素産生能を高められるようになるかもしれない。

研究成果の概要（英文）：In this study, we characterized the *in vivo* function of an archaeal SMC complex using the hyperthermophilic archaeon *Thermococcus kodakarensis* as a model organism. We revealed that the *T. kodakarensis* SMC complex functions as a ternary complex composed of Smc, ScpA, and ScpB *in vivo*. This finding was in stark contrast to a binary complex model of the archaeal SMC protein proposed by a previous *in vitro* study. We further showed that the *T. kodakarensis* SMC complex acts in concert with the nucleoid-associated protein TrmBL2 to organize the chromosome into self-interacting domains. Intriguingly, eukaryotic SMC complexes have been suggested to sculpt similar domains by cooperating with DNA-binding proteins. Our study thus suggests a eukaryotic-like mechanism of chromosomal domain formation in archaea.

研究分野： 分子生物学

キーワード： SMC アーキア 染色体構造 進化 染色体ドメイン

## 1. 研究開始当初の背景

ゲノムの高次構造は、遺伝情報の機能・維持に影響する重要な要素である。SMC 複合体はゲノム高次構造の制御に不可欠のタンパク質であり、SMC と Kleisin という 2 種類のサブユニットを主成分としたリング構造をとる。バクテリアでは、さらに Kite と呼ばれるサブユニットが Kleisin に結合することで、ゲノム構造化因子として機能するホロ複合体が形成される。一方、真核生物の SMC 複合体には、構成要素に Kite を含むもの (SMC5/6) と、Kite の代わりに Hawk という構造の大きく異なるサブユニットを含むもの (コヒーシオン・コンデンシン) が存在する。このことから、一部の真核生物 SMC 複合体は進化の過程で Kite から Hawk へのサブユニット置換を起こしたと考えられている。この多様化は、真核生物ゲノムの構造的複雑性を進化させる上で重要な役割を果たしたのだろう (Hirano, *Cell* 2016; Wells et al., *Curr. Biol.* 2017)。しかし、一部の真核生物 SMC 複合体が機能的に重要であったはずの Kite をなぜ喪失できたのかは大きな謎に包まれている。

真核生物の起源となった原核生物群「アーキア (古細菌)」では、多くの種がバクテリア型の SMC・Kleisin・Kite (それぞれ Smc・ScpA・ScpB と呼ばれている) をコードする遺伝子をもっていている。興味深いことに、少なくとも一部のアーキアでは ScpB が ScpA に結合できないことが組換えタンパク質を用いた解析で示されている (Jeon et al., *lucrj* 2020)。このことから、アーキアの SMC 複合体は機能する上で Kite サブユニットを必須としないこと、またこのようなアーキア SMC 複合体の性質が多様な真核型 SMC 複合体の出現を可能にした可能性が考えられる。しかし、アーキアでは SMC 複合体の機能解析がほとんど進んでおらず、上記の可能性の検証は進んでいない。

## 2. 研究の目的

本研究では、アーキアの Smc・ScpA・ScpB が細胞内でのゲノム構造化に果たす役割を解明することを目指した。また、このような試みを通じて、真核型 SMC 複合体の構造や機能がどのように進化してきたのかについての知見を得ることを目指した。

## 3. 研究の方法

超好熱性アーキア *Thermococcus kodakarensis* がもつ Smc・ScpA・ScpB について、そのゲノム構造化における役割を遺伝子破壊実験と Hi-C (Lieberman-Aiden et al., *Science* 2009) の変法である 3C-seq を主軸として解析した。

## 4. 研究成果

### (1) 3C-seq 解析による染色体逆位の同定

*T. kodakarensis* における Smc・ScpA・ScpB の機能を調べるための準備として、*T. kodakarensis* に対する高分解能 3C-seq プロトコルを確立した (最高分解能: 500 bp)。このプロトコルを用いて *T. kodakarensis* 野生株の染色体構造を調べたところ、染色体逆位の存在を示す相互作用シグナルが観察された。この逆位は、約 10 kb の相同なウイルス由来配列 (TKV2、TKV3) が breakpoint となって生じたことが示唆された。PacBio シーケンシングを含む様々な追加検証の結果、*T. kodakarensis* では逆位を含む染色体コピーとそうでない染色体コピーが 1 細胞レベルで混在していることが示唆された。*T. kodakarensis* のゲノム配列がショットガンシーケンシング法によって決定された際には、このようなヘテロな逆位の存在は見逃されてしまったのだと考えられる (Fukui et al., *Genome Res.* 2005)。今回の予想外の発見は、代表的なモデル生物アーキアである *T. kodakarensis* を研究する上で重要な基礎的知見になると考えられる。

### (2) *T. kodakarensis* の Smc・ScpA・ScpB は染色体ドメイン構造の形成に必要である

上述の 3C-seq 解析から、*T. kodakarensis* の環状染色体が 2 つのドメイン構造に区切られることも明らかになった。遺伝子破壊株を用いた解析から、これらの形成には Smc と ScpA だけでなく ScpB も必要であることが予想に反して明らかになった。酵母ツーハイブリッド法および AlphaFold2 を用いた複合体構造予測から、ScpA は Smc 存在下において構造変換を起こすことで ScpB と相互作用できるようになることが示唆された。多くのバクテリアはアーキアと同じく Smc・ScpA・ScpB を有するが、バクテリアでは ScpA と ScpB が Smc の非存在下でも安定な複合体を形成することが報告されている (Kamada et al., *Structure* 2013)。今回アーキア・バクテリア間でみられた差異が真核型 SMC 複合体の進化とどう関連するののかは興味深い課題である。

### (3) *T. kodakarensis* の SMC 複合体は TrmBL2 と協調することでドメイン形成を行う

真核生物では、SMC 複合体が DNA ループを形成してこれを押し出す一方、このような運動が特定の DNA 結合タンパク質によって止められることで、染色体ドメイン構造 (TAD) の境界が形成される。*T. kodakarensis* の染色体ドメイン形成においても DNA 結合タンパク質が関与するかを検証するため、ドメイン境界部をプローブとした DNA アフィニティ精製を行ったところ、核様体結合タンパク質の一種である TrmBL2 が単離された。TrmBL2 の破壊株を作製して 3C-seq を行なったところ、この株においてドメイン境界の消失が観察された。さらに、Smc の結合ゲノム部位

を ChIP-seq により決定し、この結合部位が TrmBL2 破壊株でどう変化するかを調べたところ、Smc が TrmBL2 依存的にドメイン境界に集積することがわかった。以上から、*T. kodakarensis* において TrmBL2 は SMC 複合体の DNA ループ押し出しを停止させることでドメイン形成を促進することが示唆された。本成果は真核型の TAD 形成機構の雛形がアーキアにも存在することを示唆するものであり、SMC 複合体を介したゲノム構造化機構の進化を考える上で重要な知見をもたらすと期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計12件（うち招待講演 5件 / うち国際学会 4件）

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>竹俣直道                            |
| 2. 発表標題<br>SMC複合体とバウンダリー因子によるアーキア染色体の構造化機構 |
| 3. 学会等名<br>日本ゲノム微生物学会第17回年会                |
| 4. 発表年<br>2023年                            |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>竹俣直道                           |
| 2. 発表標題<br>SMC複合体とバウンダリー因子によるアーキアTADの形成機構 |
| 3. 学会等名<br>第45回日本分子生物学会年会（招待講演）           |
| 4. 発表年<br>2022年                           |

|                                     |
|-------------------------------------|
| 1. 発表者名<br>竹俣直道                     |
| 2. 発表標題<br>超好熱性アーキアから探る染色体の構造と機能の進化 |
| 3. 学会等名<br>第23回極限環境生物学会年会（招待講演）     |
| 4. 発表年<br>2022年                     |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>竹俣直道  |
| 2. 発表標題<br>Archaeal Smc-ScpAB and the Xer recombinase create TAD-like structures |
| 3. 学会等名<br>Genome organisation by SMC complexes（国際学会）                            |
| 4. 発表年<br>2022年  |

|                                   |
|-----------------------------------|
| 1．発表者名<br>竹俣直道                    |
| 2．発表標題<br>アーキアにおける染色体高次構造の制御とその意義 |
| 3．学会等名<br>日本遺伝学会第94回大会（招待講演）      |
| 4．発表年<br>2022年                    |

|   |
|---|
| 1．発表者名<br>竹俣直道  |
| 2．発表標題<br>Condensin-mediated organization of archaeal chromosomes |
| 3．学会等名<br>EMBO Molecular Biology of Archaea（国際学会）                 |
| 4．発表年<br>2022年  |

|                                    |
|------------------------------------|
| 1．発表者名<br>竹俣直道                     |
| 2．発表標題<br>SMC複合体を基盤としたアーキア染色体の構築機構 |
| 3．学会等名<br>第74回日本細胞生物学会大会（招待講演）     |
| 4．発表年<br>2022年                     |

|   |
|---|
| 1．発表者名<br>竹俣直道  |
| 2．発表標題<br>Molecular mechanism of SMC-mediated domain formation in archaea |
| 3．学会等名<br>第3回Hi-C研究会（招待講演）  |
| 4．発表年<br>2023年  |

|  |
|--|
| 1．発表者名<br>竹俣直道   |
| 2．発表標題<br>Molecular mechanism of SMC-mediated domain formation in archaea  |
| 3．学会等名<br>Gordon Research Conference: Chromosome Biology From Cellular, Molecular and Physical Perspectives (国際学会) |
| 4．発表年<br>2023年   |

|                                  |
|----------------------------------|
| 1．発表者名<br>竹俣直道                   |
| 2．発表標題<br>アーキアにおける染色体ドメイン構造の形成機構 |
| 3．学会等名<br>第24回極限環境生物学会年会         |
| 4．発表年<br>2023年                   |

|   |
|---|
| 1．発表者名<br>竹俣直道                              |
| 2．発表標題<br>アーキアの染色体ドメイン形成機構                  |
| 3．学会等名<br>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<br>2024年                              |

|   |
|---|
| 1．発表者名<br>竹俣直道  |
| 2．発表標題<br>Molecular Mechanism of Chromosomal Domain Formation in Archaea              |
| 3．学会等名<br>RIKEN International Symposium on Nuclear Structure and Function 2024 (国際学会) |
| 4．発表年<br>2024年  |

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

|  | 氏名<br>(ローマ字氏名)<br>(研究者番号) | 所属研究機関・部局・職<br>(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 |
|---------|---------|
|---------|---------|