

令和 6 年 6 月 1 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20H03185

研究課題名(和文) 染色体末端テロメア/サブテロメアの機能・構造維持メカニズム

研究課題名(英文) Mechanisms for the structure formation and functions of subtelomeres

研究代表者

加納 純子 (Kano, Junko)

東京大学・大学院総合文化研究科・教授

研究者番号：10323809

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,600,000円

研究成果の概要(和文)：真核生物の線状染色体の最末端にはテロメアと呼ばれるドメインが存在し、そのテロメアに隣接して「サブテロメア」と呼ばれるドメインが存在する。本研究課題では、サブテロメアの構造維持の分子機構を明らかにすることを目的とした。分裂酵母のサブテロメアに特異的に形成される凝縮クロマチン構造 Knob の形成に関与する因子を同定し、様々な解析を行ったところ、Knob 構造形成にはヒストン H2A-S121 のリン酸化、ヒストン H3-K36 のメチル化、ヒストン H4 の脱アセチル化が重要であることがわかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

サブテロメアには様々な遺伝子配列が含まれており、ヒトではサブテロメア遺伝子は様々な疾患と関連していることが知られている。サブテロメアで形成される凝縮クロマチン構造は、そこに存在する遺伝子の発現を抑制することから、今回の研究成果は、正常な凝縮クロマチン構造形成が遺伝子発現を正常レベルに維持するための機構を明らかにできたと言える。今後は、ヒトのサブテロメア関連の疾患の原因究明につながることを期待される。

研究成果の概要(英文)：At the very end of the linear chromosomes of eukaryotes lies a domain called the telomere, adjacent to which exists a domain known as the "subtelomere." The aim of this research project was to elucidate the molecular mechanisms underlying the maintenance of subtelomere structure. Through various analyses, factors involved in the formation of the condensed chromatin structure, Knob, specifically formed at the subtelomeres of fission yeast, were identified. It was found that phosphorylation of histone H2A-S121, methylation of histone H3-K36, and deacetylation of histone H4 are crucial for Knob structure formation.

研究分野：分子生物学

キーワード：染色体 テロメア サブテロメア クロマチン ヒストン

1. 研究開始当初の背景

遺伝情報の担い手である DNA は、タンパク質などと結合して染色体と呼ばれる構造体を形成する。染色体には様々なドメインがあり、それぞれが独自の役割を果たすことによって染色体全体の機能が維持されている。染色体の最末端に存在するドメインであるテロメアは、特殊な繰り返し DNA 配列を持ち、染色体末端の保護や細胞寿命制御など、生命維持に必須の役割を果たしている。

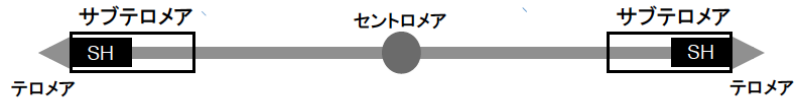


図1: 真核生物の一般的な染色体構造

一方、テロメアに隣接してサブテロメアと呼ばれるドメインがある。サブテロメアは、テロメアの繰り返し配列とは異なる DNA 配列を持ち、各生物種のサブテロメア間で相同性が非常に高く長大な共通配列（以下、SH 配列と呼ぶ）を含んでいる（図 1）。

サブテロメアは、長大な重複配列が存在する等の実験手法的困難から、その機能がほとんど明らかにされてこなかった“染色体の未開の地”である。これまでに我々は、サブテロメア解析に有利な分裂酵母を用いてサブテロメアのクロマチン構造の研究を行ってきた。分裂酵母の SH 配列領域（約 50 kb）では、ヒストン H3-K9 残基のメチル化修飾を介して高度に凝縮したヘテロクロマチン構造が形成されることを発見した（Kanoh, *Curr. Biol.*, 2005）（図 2）。

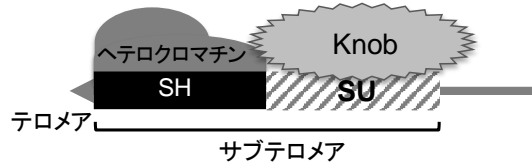


図2: 分裂酵母サブテロメアにおける二つのクロマチン構造

一方、サブテロメアの SH 領域に隣接するユニークな（他と高い相同性を示さない）DNA 配列からなる約 50 kb の SU 配列領域では、前述のヘテロクロマチンよりさらに高度に凝縮した Knob と呼ばれるクロマチン構造が形成される（Matsuda, *Nature Commun.*, 2015）（図 2）。これまでに我々は、細胞分裂期にセントロメアに局在して正確な染色体分配に重要な Shugoshin 2 (Sgo2) タンパク質が、間期（細胞分裂期以外）にサブテロメアに局在を変え、Knob 構造の形成を誘導するとともに、サブテロメア遺伝子群の発現量の維持（抑制）やサブテロメア領域の DNA 複製のタイミング維持に寄与していることを発見した（Tashiro, *Nature Commun.*, 2016: 図 3）。

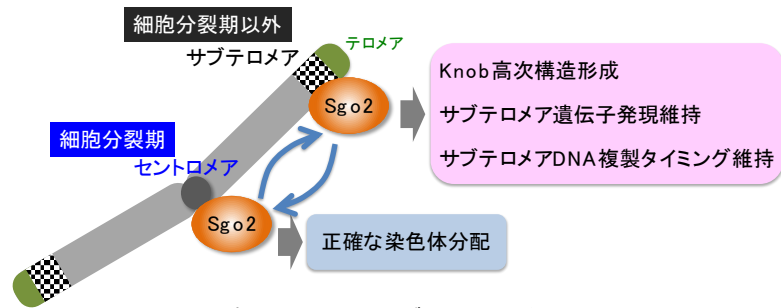


図3: 分裂酵母Sgo2によるサブテロメア機能制御

2. 研究の目的

以上のように、サブテロメアには二種類の凝縮クロマチン構造が形成され、Knob に関してはセントロメアタンパク質 Sgo2 が間期特異的にサブテロメアにリクルートされ、Knob 形成に必須の役割を果たしていることが明らかになった。しかし、Sgo2 が具体的にどのようにして Knob 構造を形成するのか？ Sgo2 以外にどのような因子が Knob 構造形成に関与しているのか？ という疑問が残っていた。一方、ヘテロクロマチンや Knob は、その凝縮構造によって遺伝子発現を抑制する効果を持つ。もしこれらが無秩序に染色体に広がると、ユークロマチン領域に存在する様々な遺伝子の発現が抑制され、細胞増殖に大きな影響を及ぼす。実際はそうならないように、

サブテロメアの範囲はどのようにして厳密に決定されているのだろうか？ 本研究ではこれらの疑問を明らかにし、サブテロメア構造維持の分子メカニズムを解明することを目的とした。

3. 研究の方法

1) サブテロメアの Knob 構造はどのようにして形成されるのか？

これまでの研究成果より、Sgo2 がサブテロメアの Knob 構造形成に必須であることがわかっている。しかし、Sgo2 の具体的な作用機序は不明である。そこで、Sgo2 の上流や下流で働く因子、あるいは Sgo2 とは独立に Knob 形成に関与する因子を網羅的に同定するため、異なる染色体の Knob 領域に *ade6⁺*、*his5⁺*、*ura4⁺* マーカー

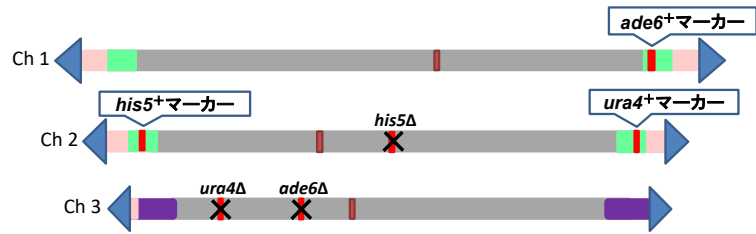


図4: 3種のマーカー遺伝子をKnob領域に挿入した株 (それぞれの元の遺伝子は破壊されている。)

一遺伝子を挿入した株を作製した (図 4)。次に、ランダムにゲノム変異を誘発し、Knob 形成異常によりマーカー遺伝子の発現が異常になった (脱抑制された) と思われる変異株ライブラリーを作製することにより、Knob 領域の遺伝子発現が脱抑制されている、すなわち Knob 形成に異常を生じていると思われる変異株を単離し、原因遺伝子の機能について詳しく解析した。

2) サブテロメアとユークロマチンのバウンダリーはどのように決定されているか？

これまでの我々の解析により、SH 配列を削除した株では SU(Knob)領域全体にヘテロクロマチンが広がることがわかった (図 5, 上, 三角)。この時、さらに約半分の SU 領域を削っても、ヘテロクロマチンはサブテロメアの外側に広がることはなかった (図 5, 上, 菱形)。このことから、サブテロメアの末端部分には、それ以上染色体内部にヘテロクロマチンが侵入しないようにブロックするシステムが存在していることが示唆された。興味深いことに、その部位においてヒストンの局在が見られなくなっていたことから (図 5, 中下)、ヒストン 8 量体から形成されるヌクレオソーム構造が欠落していると考えられた。すなわち、ヘテロクロマチンの伝搬 (広がること) には足場であるヌクレオソームが必要となるが、その足場を欠落させることによって、それ以上の伝搬を防いでいるのではないかと推測している。そこでまず、既に解析中のサブテロメア 2R 以外のサブテロメアにもバウンダリーが

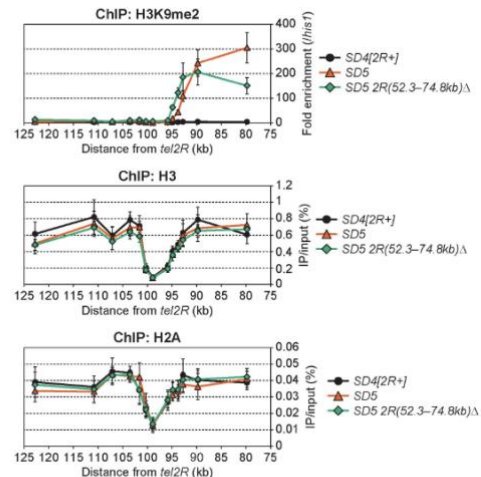


図5: SH配列を削除したSD5株などのサブテロメア末端におけるヘテロクロマチンおよびヒストンの局在の様子 (右側がテロメア)

存在しているのかを明らかにするため、サブテロメア配列を徐々に削除してヘテロクロマチンや Sgo2 の局在を解析する。また、マーカー遺伝子をサブテロメア領域のすぐ外側に挿入し、バウンダリー機能欠損によりマーカー遺伝子にヘテロクロマチンが侵入して遺伝子発現が抑制される変異株のスクリーニングを行い、原因遺伝子を突き止めることにした。

4. 研究成果

1) サブテロメアの Knob 構造はどのようにして形成されるのか?

これまでに 315 万株をスクリーニングし、483 株のサブテロメア遺伝子発現異常変異株の取得に成功した。得られた変異株の中で特に強い表現型を示したものとして、*nts1⁺* 遺伝子の変異株が複数同定された。*Nts1* は *Clr6* を中心とした HDAC 複合体の Complex 1”に含まれるタンパク質である (Zillio, *Mol. Cell. Biol.*, 2014)。これまでの解析により、*Nts1* は少なくともヒストン H4 の脱アセチル化に関与し、他のヒストン修飾と協調しながら *Sgo2* のサブテロメア局在を制御していることがわかった (論文投稿中)。

2) サブテロメアとユークロマチンのバウンダリーはどのように決定されているか?

2R 以外のサブテロメアの部分欠失を行ったところ、それぞれのサブテロメアにおいて隣接するユークロマチンとのバウンダリーが存在することが示唆された。また、バウンダリーに関与する因子を同定するため、2R のサブテロメアのすぐ外側に挿入したマーカー遺伝子の発現が抑制されている変異株をスクリーニングしたところ、現在までに 3 つの有望な株を得ている。今後、それらが具体的にどのようにしてバウンダリー機能に関与しているのかを調べる予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Junko Kanoh	4. 巻 98
2. 論文標題 Subtelomeres: hotspots of genome variation.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Genes Genet. Syst.	6. 最初と最後の頁 155-160
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1266/ggs.23-00049	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 -

1. 著者名 Junko Kanoh	4. 巻 13
2. 論文標題 Roles of specialized chromatin and DNA structures at subtelomeres in Schizosaccharomyces pombe.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Biomolecules	6. 最初と最後の頁 810
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/biom13050810	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 -

1. 著者名 Yamamoto I, Nakaoka H, Takikawa M, Tashiro S, Kanoh J, Miyoshi T, Ishikawa F.	4. 巻 49
2. 論文標題 Fission yeast Stn1 maintains stability of repetitive DNA at subtelomere and ribosomal DNA regions.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nucleic Acids Res.	6. 最初と最後の頁 10465-10476
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/nar/gkab767.	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 -

1. 著者名 Oizumi Y, Kaji T, Tashiro S, Takeshita Y, Date Y, Kanoh J.	4. 巻 12
2. 論文標題 Complete sequences of Schizosaccharomyces pombe subtelomeres reveal multiple patterns of genome variation.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nat. Commun.	6. 最初と最後の頁 611
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41467-020-20595-1	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17件（うち招待講演 14件 / うち国際学会 4件）

1. 発表者名 加納純子
2. 発表標題 DNAの端が創出する生物多様性
3. 学会等名 大隅基礎科学創成財団第7回創発セミナー（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 竹中健人、大泉祐介、加治拓人、田代三喜、加納純子
2. 発表標題 テロメア隣接領域サブテロメアはゲノム変化のホットスポットである
3. 学会等名 日本進化学会年大会第24回沼津大会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 加納純子
2. 発表標題 Subtelomere-specific highly condensed chromatin structure requires three different histone modifications in fission yeast
3. 学会等名 EMBO workshop, Telomere function and evolution in health and disease（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 加納純子
2. 発表標題 DNAの端が創出する生物多様性
3. 学会等名 大隅基礎科学創成財団第7回創発セミナー（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 竹中健人、大泉祐介、加治拓人、田代三喜、加納純子
2. 発表標題 テロメア隣接領域サブテロメアはゲノム変化のホットスポットである
3. 学会等名 日本進化学会年大会第24回沼津大会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 加納純子
2. 発表標題 Subtelomere-specific highly condensed chromatin structure requires three different histone modifications in fission yeast
3. 学会等名 EMBO workshop, Telomere function and evolution in health and disease（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Junko Kanoh
2. 発表標題 Evolution of telomere-adjacent regions in primates
3. 学会等名 Telomeres & Telomerase meeting（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Junko Kanoh
2. 発表標題 Why do eukaryotes have linear chromosomes?
3. 学会等名 Pombe 2023（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 加納純子
2. 発表標題 サブテロメアはテロメアのサブじゃない
3. 学会等名 第203回酵母細胞研究会例会（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 加納純子
2. 発表標題 分裂酵母サブテロメア特異的凝縮クロマチン構造の形成メカニズム
3. 学会等名 第56回酵母遺伝学フォーラム研究報告会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 加納純子
2. 発表標題 染色体末端近傍領域サブテロメアにおける凝縮クロマチン構造形成
3. 学会等名 第46回日本分子生物学会年会（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 加納純子
2. 発表標題 染色体の最先端(とその隣)の研究を支える分裂酵母
3. 学会等名 第23回酵母合同シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 加納純子
2. 発表標題 テロメア隣接領域サブテロメアのゲノム進化
3. 学会等名 日本遺伝学会第93回大会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 加納純子
2. 発表標題 染色体末端近傍領域サブテロメア配列のコピー数バリエーション
3. 学会等名 第44回日本分子生物学会年会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 加納純子
2. 発表標題 サブテロメアはゲノム進化のホットスポットである
3. 学会等名 第53回酵母遺伝学フォーラム研究報告会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Junko Kanoh
2. 発表標題 Complete sequences of <i>S. pombe</i> subtelomeres reveal multiple patterns of genome variation
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 加納純子
2. 発表標題 サブテロメアはゲノム進化のホットスポットである
3. 学会等名 第38回染色体ワークショップ / 第19回核ダイナミクス研究会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計3件

1. 著者名 加納純子、石井浩二郎	4. 発行年 2022年
2. 出版社 丸善出版	5. 総ページ数 690
3. 書名 遺伝学の百科事典 継承と多様性の源・日本遺伝学会編「セントロメアとテロメア」	

1. 著者名 加納純子	4. 発行年 2021年
2. 出版社 化学同人	5. 総ページ数 560
3. 書名 エッセンシャル遺伝学・ゲノム科学（原著第7版）「13章 細胞周期とがんの分子遺伝学」	

1. 著者名 加納純子	4. 発行年 2020年
2. 出版社 北隆館	5. 総ページ数 80
3. 書名 細胞 THE CELL「染色体末端サブテロメアによる遺伝子発現制御」	

〔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
---------	---------