

令和 6 年 6 月 25 日現在

機関番号：12601

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K19208

研究課題名（和文）真核生物はなぜ線状の染色体をもつのか？

研究課題名（英文）Why do eukaryotes have linear chromosomes?

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） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：一般的に、酵母などの真核生物の染色体は線状であり、大腸菌などの原核生物の染色体は環状である。生物界には、なぜこのような2種類の形態が存在するか、なぜ真核生物は環状染色体をもつことはないのか、という疑問を解き明かすため、染色体を3本しか持たない分裂酵母を用いて自己環状化染色体をもつ細胞を作製し、その表現型を詳しく解析した。その結果、環状染色体をもつ細胞は細胞分裂期において染色体が絡みやすく、それが原因で死にやすいことがわかった。さらに、トポイソメラーゼ阻害剤に対して高い感受性を示したことから、真核生物ではトポイソメラーゼが環状DNAに対して十分に機能していない可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

真核生物と原核生物は同じ祖先から進化したと考えられるが、染色体の形態が決定的に異なる。本研究の成果はこの生命の根源に迫るものであり、多くの人の関心を引き寄せるであろう。また、ヒトの癌の一種に環状染色体を含むものがある。本研究によって、環状染色体をもつ真核生物が正常に増殖することができるように操作することができれば、その癌の治療にも役立つ可能性が期待される。

研究成果の概要（英文）：Generally, the chromosomes of eukaryotes such as yeasts are linear, while those of prokaryotic organisms such as Escherichia coli are circular. To elucidate why these two types of morphologies exist in the biological world and why eukaryotes do not possess circular chromosomes, we created cells with self-circularized chromosomes using fission yeast, which only has three chromosomes, and extensively analyzed their phenotype. As a result, it was found that cells with circular chromosomes tend to have tangled chromosomes during cell division, which leads to increased susceptibility to cell death. Furthermore, their high sensitivity to topoisomerase inhibitors suggests that topoisomerases may not function adequately on circular DNA in eukaryotic organisms.

研究分野：分子生物学

キーワード：染色体 テロメア 真核生物 原核生物 進化

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

一般的に、酵母などの真核生物の染色体は線状であり、大腸菌などの原核生物の染色体は環状である。生物界には、なぜこのような2種類の形態が存在するのだろうか？真核生物の染色体が線状である根本的な理由・利点は何だろうか？テロメアが染色体末端に存在すると細胞寿命をカウントできるが、果たしてそれだけであろうか？

この生物の根本を問う疑問に答えるためには、同一の生物種で線状と環状の染色体をもつ細胞を比較する必要がある。真核生物の線状染色体の末端に存在するドメインであるテロメアは (図1)、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



図1: 真核生物の一般的な染色体構造

命維持に必須の役割を果たすことが知られている。サブテロメアは、テロメアに隣接するドメインであり、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 (図1の SH [Subtelomere Homologous] 配列) を含んでいる。一般的に、テロメラーゼ (テロメア DNA 伸長酵素) の不活性化によってテロメアが短小化 (消失) して染色体末端の保護機能が失われると、異なる染色体の末端どうしが融合してしまい、細胞分裂期 (M 期) の染色体分配に異常が生じて細胞は死に至ると考えられている。しかし、単細胞真核生物である分裂酵母の染色体数は、真核生物の中で例外的に少ないため (3 本)、低頻度ではあるが、大腸菌の染色体のように各染色体が「自己」環状化して安定化したサバイバー株を取得することができる。また、分裂酵母は遺伝学的解析が容易であり、本研究のような解析が可能な数少ないモデル生物である。

我々はこれまでに、分裂酵母細胞においてテロメラーゼを欠失させることにより、様々な形態の染色体をもつ株を取得した (図

2)。野生株でテロメラーゼを欠失させると、サバイバーのほとんどはサブテロメアの SH 配列内で末端融合した自己環状化染色体を保持している。Type A はテロメア結合タンパク質 (Taz1 など) の局在が残っており、Type B はサブテロメアの消失度が大きく、Taz1 の局在が完全に失われて

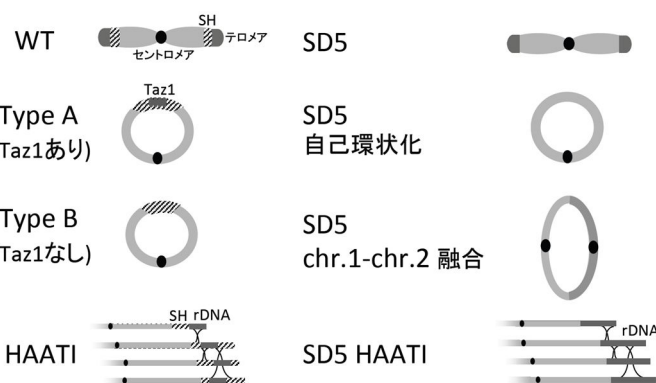


図2: 本研究で用いる分裂酵母の様々な染色体形態

いる。また、SH 配列あるいは3番染色体のテロメア近傍にある ribosomal DNA (rDNA) 繰り返し配列部分で組換え反応を起こしている HAATI と呼ばれる線状染色体タイプ (テロメアなし) のサバイバーも得られた。さらに我々は、サブテロメアの SH 配列をゲノムから完全に欠失させた株 (以下、SD5 株) の作製に成功した (Tashiro, *Nucleic Acids Res.*, 2017)。興味深いことに、SD5 株においてテロメラーゼを欠失させると、自己環状化染色体をもつサバイバーとともに、1番、2番染色体の末端が融合して環状化した染色体をもつサバイバーが比較的高頻度に得られた。こ

の染色体は2つのセントロメア配列を含んでいるが、必ず片方のセントロメアが不活性化されているため、安定に維持される (Tashiro, *Nucleic Acids Res.*, 2017)。さらに、rDNA 配列部分のみで組換え反応を起こしている HAATI タイプのサバイバーも得られた。これらの8株(図2)について、栄養豊富な培地における生存率を測定したところ、環状化染色体株の生存率はいずれも50%程度まで下がっていたが、HAATI 株は正常な生存率を示した(未発表)。

2. 研究の目的

以上のことから、本来のテロメア構造は不要であるが、染色体が線状であることが栄養条件における正常な増殖に必要であるということがわかった。そこで本研究では、なぜ環状化染色体をもつ細胞は死にやすいのか? その細胞が死ぬ際、細胞内で何が起きているのか? 染色体末端の存在が細胞増殖のどの場面で重要なのか? を明らかにする。

3. 研究の方法

本研究では、様々な形態の染色体をもつ分裂酵母を用いて、染色体形態の違いによる細胞増殖への影響を解析し、染色体末端構造の重要性を明らかにする。

1) 環状化染色体細胞の細胞伸長は何が原因か?

環状化染色体をもつ細胞は、栄養豊富な培養条件において非常に長い細胞形態を示すことがわかっている。染色体環状化株において、細胞周期進行異常の原因を調べる。

2) 環状化染色体細胞は細胞周期のどの phase で死にやすいのか?

染色体の動きをライブ観察し、環状化染色体細胞が死ぬ瞬間をキャッチする。染色体末端が細胞周期のどの phase に最も重要なのかを明らかにする。

3) 環状化染色体細胞は様々な環境ストレスに高い感受性を示すのか?

様々なストレスをかけた際の反応が染色体形態によってどのように異なるのか解析する
RNA-seq 解析により、染色体形態の違いによるゲノムワイドな遺伝子発現の変化を解析する。

4) 環状化染色体は染色体間の相互作用や染色体の核内配置に異常が生じているか?

最近、染色体は頻繁に他の染色体部位や核膜と相互作用していることが明らかにされつつある。環状化染色体のHiC解析、ChIP-seq解析を行い、染色体間相互作用や核膜との相互作用に異常が生じているのか解析する。

4. 研究成果

今回新たにテロメア末端保護に重要な Pot1 タンパク質を欠失させることにより、分裂酵母の3本の線状染色体をすべて自己環状化させた株を作製した。野生型と生存率を比較したところ、環状化株ではやはり50%程度に落ちていた。どのタイミングで細胞が死ぬのかを効率的に調べため、細胞を長時間連続ライブ観察したところ、M期の染色体分配異常が致死の主原因となっていることが示唆された。その際、染色体が絡んで両極にうまく分離できないケースが多く見られたため、DNAの絡みを解く酵素トポイソメラーゼの阻害剤で細胞を処理したところ、環状

化株は野生株よりも高い感受性を示すことがわかった。現在、この詳細について解析を続けている。また、分裂酵母の3本の染色体を人工的に1本に繋げた状態から Pot1 を欠損させ、1本の環状染色体をもつ細胞の作製にも成功した。この細胞は増殖が遅いものの、3本の環状染色体をもつ場合とほぼ同様に、50%程度の致死率を示した。このことから、環状染色体の数が問題なのではなく、環状染色体が1本でも真核生物では問題が生じることが示唆された。現在、原核生物と真核生物の間で何が変化したのかを明らかにしようとしている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Io Yamamoto, Hidenori Nakaoka, Masahiro Takikawa, Sanki Tashiro, Junko Kanoh, Tomoichiro Miyoshi, Fuyuki Ishikawa	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 Research	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 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 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 オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計11件（うち招待講演 10件／うち国際学会 3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ヒ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 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「YEAST 2020+1 世界と未来を変える酵母」（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 国内シンポジウム「ゲノム進化と生物多様性」（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 ワークショップ「ゲノムDNA量の変化から紐解く生物の生存戦略」(招待講演)
4. 発表年 2021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

〔図書〕 計1件

1. 著者名 加納純子（13章の翻訳担当）	4. 発行年 2021年
2. 出版社 化学同人	5. 総ページ数 523
3. 書名 エッセンシャル遺伝学・ゲノム科学（原著第7版）中村千春・岡田清孝監訳	

〔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
---------	---------