

## 研究題目 ヘテロクロマチン形成の時空間ダイナミクスの解明

### 研究組織

研究代表者：片岡研介（自然科学研究機構基礎生物学研究所）

共同研究者：小迫英尊（徳島大学先端酵素学研究所）

### 【1】研究の概要

#### [1-1] 本研究の目的・概要

クロマチンが高次に凝集したヘテロクロマチンは、トランスポゾンなどの転移因子の抑制だけでなく、個体発生や細胞分化におけるエピジェネティックな遺伝子発現制御、疾患や老化などの高次生命現象においても重要な役割を果たしている。ヘテロクロマチンには、特徴的なヒストン H3 のメチル化修飾が存在し、この修飾を HP1 タンパク質が認識することで、ゲノム上にヘテロクロマチンの基盤が形成される。ヘテロクロマチンは、この HP1 の基盤を介して様々なヘテロクロマチン因子がクロマチン上にリクルートされることによって形成されると考えられるが、そのメカニズムの全容は明らかではない。本共同利用研究では、ヘテロクロマチンの形成過程を時間経過と共に順序立てて解析できるテトラヒメナをモデルとして、ヘテロクロマチンを構成するタンパク質の変化を経時的に解析した。

#### [1-2] 研究の方法・経過

単細胞性のテトラヒメナは、一つの細胞内に小核と大核の2種類の核を有する原生生物である。同調誘導が可能な有性生殖過程では、小核が大核に分化する。この大核分化の過程では、ゲノムに散在する転移因子が新規 (*de novo*) にヘテロクロマチン化される（有性生殖誘導後 8 時間）。*de novo* にヘテロクロマチン化されたゲノム領域は徐々に集合し、ヘテロクロマチンが凝集した核内構造体を形成し（有性生殖誘導後 12 時間）、最終的に大核ゲノムから排除される（有性生殖誘導後 16 時間）。

我々が実施したこれまでの研究では、有性生殖誘導後約 12-16 時間に形成されるヘテロクロマチンの凝集体が、内在する転移因子の削減に必須であることを明らかにしている (Kataoka & Mochizuki *Dev Cell* 2015; Kataoka et al. *PNAS*

2016)。したがって、凝集したヘテロクロマチンには、転移因子を削減するために必要なトランス制御因子が、時空間特異的にリクルートされることが考えられる。本共同利用研究では、ヘテロクロマチンの主要なタンパク質である HP1 タンパク質に着目し、前述したヘテロクロマチン形成の 3 つの段階（有性生殖誘導後 8、12、16 時間）で、近位依存性ビオチン化酵素を用いて、HP1 タンパク質に近接するタンパク質を標識し、質量分析により標識されたタンパク質を同定した。

### 【2】研究成果

#### [2-1] 本共同研究で明らかになった研究成果

質量分析の結果、ヘテロクロマチンの動体変化が観察される各時間において、近位依存性ビオチン化酵素でタグ付けした HP1 を発現する細胞で有意に同定される 1,000 個以上のタンパク質を見出した。さらに、ヘテロクロマチンの形成直後（有性生殖誘導後 8 時間）とヘテロクロマチンが凝集し、転移因子が分解される時期（有性生殖誘導後 16 時間）で同定されたタンパク質の比較を行い、転移因子が分解される時期に有意に蓄積する 124 個のタンパク質を同定した。これらの中には、転移因子 DNA を切断することがすでに知られている Tpb2 タンパク質が含まれており、本解析で同定されたタンパク質が実際にヘテロクロマチンに局在する可能性が高いことが予想される。現在、同定されたタンパク質の細胞内での局在解析を進めており、すでに 10 個以上のタンパク質が凝集したヘテロクロマチンに特異的に局在することを見出している。

#### [2-2] 本共同研究による波及効果及び今後の発展性

テトラヒメナの凝集したヘテロクロマチン

では、転移因子を含むゲノム領域が取り除かれる。今回見出された多数のタンパク質には、ヘテロクロマチン化されたゲノム領域だけを取り除き、取り除いた後のゲノムを繋ぎ合わせて修復する機構に関与するタンパク質や、これらの生化学反応を担う酵素群を適切な反応場にリクルートするために必要なタンパク質が含まれることが予想される。

今回同定したタンパク質を足がかりにして、大規模ゲノム再編を制御するヘテロクロマチンの動態制御機構を解明することで、特定の生化学反応に限られたゲノム領域だけで起こす真核生物に普遍的なしくみの理解が進むものと期待される。

### 【3】主な発表論文等

#### [3-1]論文発表

なし

#### [3-2]学会発表

1. Cooperation of Multiple HP1-like proteins ensures robust DNA elimination in *Tetrahymena*  
K. Kataoka, H. Takahashi, Y. Nishimoto, O. Valentirovic, Y. Yoshimura, E. Geraud, R. Nakagawa, N. Tani, H. Koasako, A. Toyoda, K. Mochizuki, J. Nakayama  
Ciliate Molecular Biology Meeting, Montpellier, France, June 26, 2023
2. テトラヒメナのトランスポゾン排除機構  
片岡研介  
第6回転移因子研究会、三島、2023年8月25日
3. テトラヒメナのDNA削減機構と核の二型化の進化的背景  
片岡研介  
第46回日本分子生物学会年会、オンラインシンポジウム、2023年11月28日

#### [3-3]成果資料等

なし

### 【4】今後の課題等

今後の課題、その他等

本共同利用研究により、ゲノム削減を制御するタンパク質の候補が多数見出された。これらのタンパク質の機能解析を通じて、クロマチンを介した反応場形成原理を明らかにすることが今後の課題である。