

研究題目 大規模ゲノム再編反応の制御機構の解明

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

細胞の生命活動を担う様々な化学反応は、特定の場所に特定のタンパク質を集めた細胞内区画をつくることにより制御されている。近年、この区画形成の原理として、タンパク質が水と油のように分離して非膜性の液滴や凝固体を形成する、相分離が注目を集めている。これまでに、特定の因子の相分離を試験管内や培養細胞内で再現するような研究が盛んに行われているが、一方で、生体内で起こる相分離の時空間的な制御機構や、それによって制御される生化学反応の制御原理については、多くの不明な点が残されている。本共同利用研究では、テトラヒメナの相分離性のヘテロクロマチン凝集体で起こる大規模ゲノム再編の制御機構に着目して、この機構に重要な DNA 分解酵素の制御因子の候補を探索した。

[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動物である。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、ゲノムの約1万カ所に散在する転移因子がヘテロクロマチン化される。これらのヘテロクロマチン領域は、相分離によって集合し、ヘテロクロマチンが凝集した核内構造体を形成する。このヘテロクロマチンの凝集体には Tpb2 と呼ばれる DNA 分解酵素がリクルートされ、ヘテロクロマチン化された転移因子は大核ゲノムから排除される。

本共同利用研究では、Tpb2 が凝集したヘテロクロマチンに局在する機構と、その内部で作用する機構を明らかにすることを目的として、近位依存性ビオチン標識法と免疫沈降法という

原理の異なる二つの方法を用いて、Tpb2 に相互作用するタンパク質を探索することを計画した。相互作用因子の探索に先だて、これらの方法に最適なエピトープタグを融合した Tpb2 を発現する細胞株を樹立し、実際に融合タンパク質がヘテロクロマチンの凝集体に局在すること、またビオチン化を誘導した細胞では、ヘテロクロマチンの凝集体に特異的なビオチン標識が観察できることを確認した。これらの細胞株において、ヘテロクロマチンの凝集体の形成が顕著な有生殖誘導後 13 時間で、近位依存性ビオチン標識と免疫沈降を行い、それぞれの方法で精製したタンパク質を質量分析で同定した。

【2】研究成果

[2-1]本共同研究で明らかになった研究成果

近位依存性ビオチン標識法で準備したタンパク質の質量分析では、5,000 個以上のタンパク質を検出できた。一方で、ネガティブコントロールと比較して、ビオチン標識を誘導した試料に Tpb2 の濃縮がみられなかったため、今回検出された多くのタンパク質は、精製過程で非特異的に濃縮されたものと考えられる。この原因としては、細胞内の Tpb2 の発現量が微量であること、Tpb2 に融合した酵素の活性が高次構造により阻害される可能性があることなどが考えられる。

免疫沈降法による Tpb2 に相互作用するタンパク質の質量分析では、検出された約 6,000 個のタンパク質の中で、対照サンプルと比較して有意に濃縮された 241 個のタンパク質を同定することができた。これらの中には、免疫沈降した Tpb2 に加えて、ヘテロクロマチンの凝集体に局在することが既に知られているタンパク質が複数含まれており、今回同定したタンパク

質には Tpb2 の局在や活性を制御する因子が含まれていることが期待できる。

[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に Tpb2 が作用するように制御するタンパク質が含まれることが予想される。

今後、本共同利用研究で同定したタンパク質の機能解析を通じて、大規模ゲノム再編機構の全容を解明することで、特定のゲノム領域に限定的な生化学反応の制御機構についての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. 大規模ゲノム再編を制御する核内コンデンセートの形成機構
第76回細胞生物学会大会、つくば国際会議場、7月18日、2024年
2. 核内オルガネラを介した大規模ゲノム再編の制御機構
第7回 ExCELLS シンポジウム、自然科学研究機構岡崎コンファレンスセンター、1月30日、2025年

[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、大規模ゲノム再編に重要な DNA 分解酵素を制御する候補タンパク質が多数見いだされた。今後これらの作用因子の機能を解析し、大規模ゲノム再編の反応を制御するメカニズムを解明することが今後の課題である。