

2-4 相分離で導く染色体間コミュニケーション

2-4 *Inter-chromosomes Communications Mediated through Liquid-liquid Phase Separation*

丁 大橋

DING Daqiao

ゲノム遺伝情報の多様化を実現する有性生殖では、異性の親世代由来の相同染色体がお互いを見つけて対合し、相同組換えを経て染色体の一部を交換しなければならない。相同染色体の相互認識に長鎖非コード RNA (略称 lncRNA) の関与がこれまでの研究によって明らかになったが、その分子メカニズムの解明が待たれている。我々は lncRNA が対合に寄与する分子機構を解明するために、Sme2-lncRNA の結合タンパク質を検索した。その結果、多くの転写終結因子 (Smp タンパク質) が lncRNA と結合して、lncRNA のインテグレート及び lncRNA の染色体滞留に関わることが分かった。すなわち、Smp タンパク質が lncRNA と一緒に染色体上に液-液相分離したドロップレットを形成すること、同じ lncRNA を含むドロップレット同士が近くにあると一つのドロップレットに融合することができることを明らかにした。この研究から、lncRNA・Smp タンパク質ドロップレットの融合が相同染色体を引き付ける原動力になることが示唆された。

The diversity of genomic information is achieved through a sexual reproduction process called meiosis. During meiosis, homologous chromosomes from the parents find and pair with each other to exchange part of their chromosomes by homologous recombination. We have found that long noncoding RNA (lncRNA) is important for homologous chromosome pairing. To understand the underlying molecular mechanism, we screened for proteins that binding with lncRNA and as the result, we identified several transcription termination factors (Smp proteins) that involved in keeping the integrity and chromosome tethering of lncRNA, which are critical for pairing. The Smp proteins and lncRNA form liquid-liquid phase separated droplets on chromosomes. Only droplets having the same lncRNA can fuse with each other and this fusion may generate force in promoting pairing of homologous chromosomes.

1 まえがき

生命の神秘は継承と進化によって創り上げられた設計図に従い、自ら情報をセンシング、プロセッシングして、コミュニケーションできるところにある。未来の ICT 技術にブレークスルーを起こすには、生物の情報処理システムの長所に学び、その原理を人工的に再現することも有効な手段である。生物情報を担っているのが染色体 DNA (ウイルスの場合、RNA もある) で、そこに生命の設計図である遺伝情報が書かれている。染色体は自身の遺伝情報を次世代に継承するために、複製、分配、組換えや損傷修復を営むと同時に、生命活動を維持させるための遺伝子発現も制御している。これらの営みに見られる時間と空間的に高度に調和のとれた無数の複雑なプロセスを進行させるためには、

個々の染色体間において密にコミュニケーションをする必要がある。

染色体間のコミュニケーションは減数分裂期の相同染色体対合と組換えの時期に最も顕著である。減数分裂は卵子や精子をつくるときの細胞分裂で、1回の染色体複製の後に2回連続した染色体分離が続いて、その結果、2倍体の体細胞から1倍体の生殖細胞が生まれる。ヒトの細胞には、父母それぞれから受け継いだ2セット (23本×2) の染色体がある。対をなす同じ番号の染色体が相同染色体で、減数分裂においては、相同染色体の間で遺伝子交換 (相同組換え) が行われる。そのため、遺伝子交換をする前に、まず、相同染色体はお互いに相手を見つけ、同じ方向に隣り合うように並んでおく必要がある。この相同染色体がお互いを認識し、空間的に近く並ぶ仕組みは染色体間コミュニ

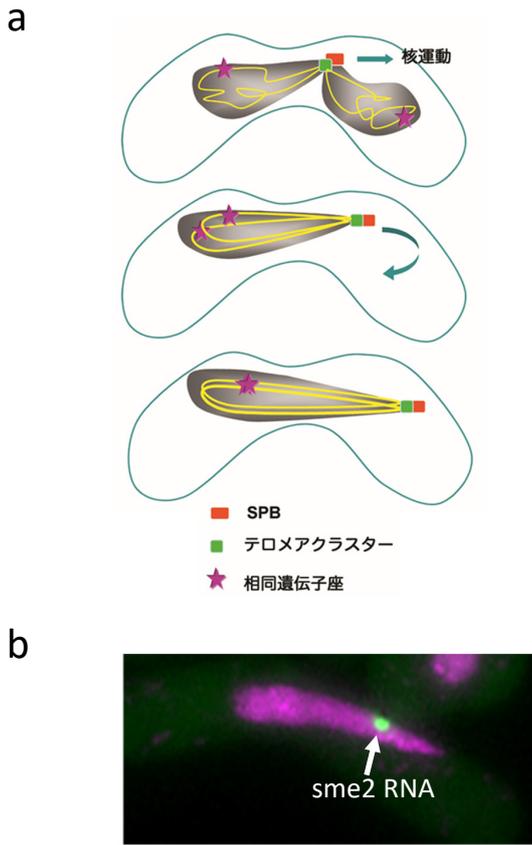


図1 (a) 減数分裂期前期核に、テロメアクラスターの形成と核運動によって相同染色体が同じ方向に揃えられる。
(b) GFP で可視化した sme2 RNA ドット (矢印) と DNA (マゼンタ) の二重染色。

ケーションの第一歩と思われる。

我々は最新の研究から、このような染色体間コミュニケーションの一端を担っているのはタンパク質と長鎖非コード RNA の液-液相分離であることが明らかになった。液-液相分離は膜を持たない区画化された領域に特定のタンパク質を濃縮することによって生化学的な反応を効率よく進める物理化学現象で、近年、液-液相分離はほぼすべての生命現象において非常に重要な役割を果たす事実が続々と明らかになり、生命科学に目覚ましい進展をもたらした。本稿では、相同染色体の相互認識における液-液相分離の役割を紹介する。

2 RNA ドットの形成に関わる因子

これまでに生物情報グループは、分裂酵母を用いて減数分裂時の染色体ダイナミクスを解明してきた。分裂酵母では、核の融合と同時にテロメアがスピンドル極体に集まり、ブーケの形状をとるホーステール核 (horsetail nucleus) と呼ばれる細長い核が形成される (図 1 a)。ホーステール核が現れる時期は、減数分裂期前期に相当し、核が往復運動しながら相同染色体の

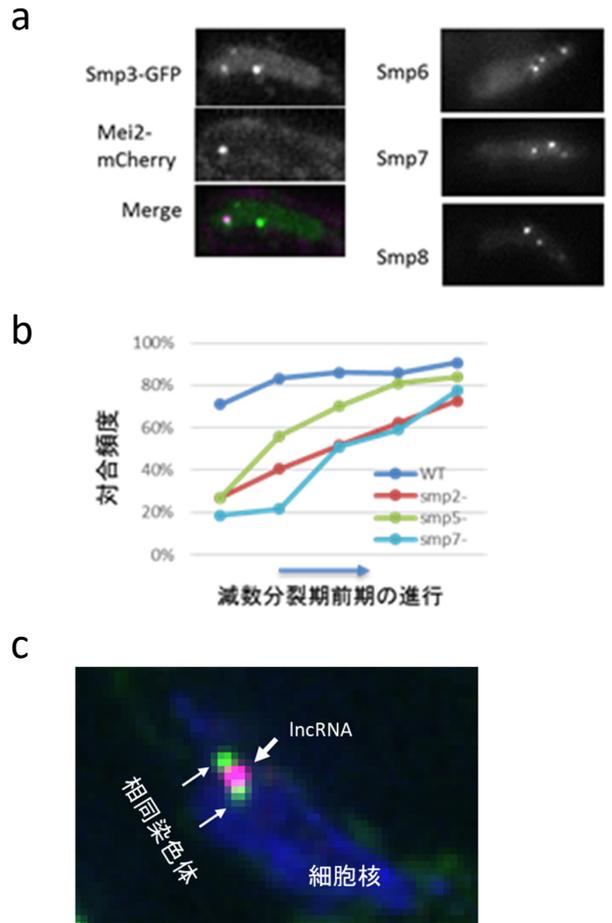


図2 (a) Smp たんぱく質が複数の核内ドットを形成する、そのの一つは sme2RNA (Mei2-mCherry で標識、左パネル) と共局在する。
(b) Smp2, Smp5, Smp7 が対合に必要である。それらのたんぱく質がないと、対合頻度が落ちる。
(c) smFISH で可視化した IncRNA (マゼンタ) と相同染色体のローカス (緑)。核 DNA が青である。IncRNA が相同染色体をリンクしている様子が分かる。

複製・対合・組換えが行われる。変異体を用いた生細胞観察により、テロメアクラスターの形成と核運動は、相同染色体を空間的に近づかせることに必要であり、安定な染色体対合に寄与することを示した [1][4]。続く解析では、第 2 染色体の sme2 遺伝子座が、テロメア付近よりも高い対合頻度を示すことを見出し、そのロバストな対合には、sme2 遺伝子座から転写される長鎖非コード RNA (lncRNA) である sme2 RNA が必要であることを明らかにした [5]。sme2 RNA は sme2 遺伝子座に集積することが観察され (図 1 b)、sme2 RNA が形成する集合体が相同染色体の対合を積極的に促進することが示唆された。

sme2 RNA が対合に寄与する分子メカニズムを解析するために、GFP ライブラリー [6][7] などのデータベースから、核内ドット様局在を示すタンパク質を検索し、sme2 ローカスと共局在を示すタンパク質 (smp タンパク質) を複数同定した (図 2 a)。同定されたタンパク質が全部 RNA 結合タンパク質で、特に転写終結

制御や poly(A) テール形成に関与する因子が含まれている。遺伝子破壊及び条件的シャットオフを行い、*sme2* サイトの対合活性に影響を与える Smp タンパク質を数個同定した (図 2 b)。これらのタンパク質は *sme2* ローカス以外にも顕著な染色体結合サイトが複数ある (図 2 a)。それらのサイトが新規の対合サイトである可能性を探るために、染色体上の位置と原因遺伝子を同定した。分裂酵母の全ゲノムをカバーするような LacO/lacI-GFP ライブラリー [8] を利用して、Smp タンパク質の染色体結合サイトが 1 番と 3 番染色体上にそれぞれ 1 個あることを同定した。さらに Smp タンパク質の染色体結合サイトを ChIP-seq 法により詳細に解析し、その原因遺伝子は *sme2* と同様に、減数分裂特異的に転写される lncRNA であることが明らかになった (図 2 c) [8]。この結果から、*sme2* RNA だけではなく、減数分裂期に転写され、しかも染色体に滞留する多くの lncRNA が相同染色体を引き付ける役割を果たすのではないかと示唆された。

3 液-液相分離は RNA ドットの形成と融合に寄与する

それでは、なぜ lncRNA と Smp タンパク質が対合に必要なのか？ 対合に必要な lncRNA を生細胞観察や smFISH (single-molecule fluorescence in situ hybridization) 法で観察すると、染色体上に丸い水滴のような形をすることが観察された (図 2 c)。この観察から lncRNA ドットや Smp タンパク質ドットは液-液相分離の原理で形成されていることが示唆された。液-液相分離であるかどうか検証するために、液-液相分離を破壊する両親媒アルコールである 1,6-hexanediol で細胞を処理することにした。その結果、Smp タンパク質ドットが消え、lncRNA ドットが分散し、相同染色体が離れてしまうことが観察された (図 3 a-c)。1,6-hexanediol 処理の作用が可逆的なもので、1,6-hexanediol を培地から除くと、直ちに Smp タンパク質と lncRNA ドットが元に戻り、対合も再び確立された (図 3 a-c)。つまりこれらの結果から、lncRNA-Smp 複合体は液-液相分離を介して集合体を形成し、その集合体形成が相同染色体を互いに引きつける原動力を生み出していることが示唆された。さらに、異なる lncRNA を含む集合体同士は融合せず、対合も促進しないことから lncRNA が対合の特異性を決めていると思われる (図 3 d)。

このように、RNA をノリとしてバーコード状に染色体上に配置し、相同染色体を認識対合させるメカニズムは、まさに進化の過程で獲得した生物の優れた知恵とも言えるだろう。ほ乳類の雌では、2つの X 染色

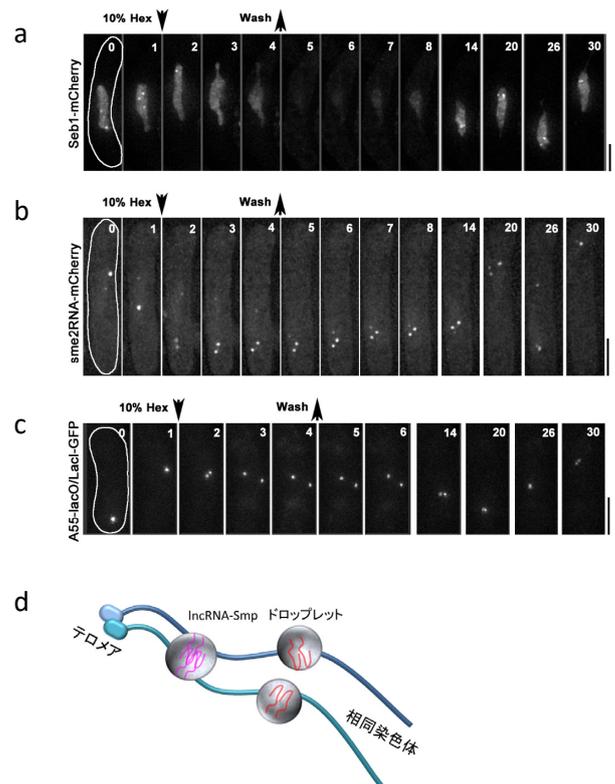


図 3 (a-c) 1,6-hexanediol 処理で変化する Smp タンパク質の核内ドット (a)、*sme2*RNA ドット (b)、相同染色体対合 (c)。(d) lncRNA-Smp ドロップレットが相同染色体の認識と対合に寄与するモデル図。テロメアクラスターと核運動によって同じ方向に揃えられた相同染色体は lncRNA-smp ドロップレットの融合によって認識、対合する。

体のどちらか一方がランダムに不活性化されるが、その過程で TsixRNA の発現と X 染色体上への蓄積に依存的に X 染色体どうしが一時的に対合することが知られている [9]。これに同様のメカニズムが働いている可能性がある。さらに、RNA とタンパク質の液-液相分離を介して無傷な 2 重鎖 DNA 間の情報交換は減数分裂期以外の細胞周期にも何らかの積極的な役割を果たすのではないかと推測でき、今後の検証が待たれるところである。

4 まとめ

以上の相同染色体対合に関する研究成果から、染色体間コミュニケーションの極意はスケールアップしながら、デジタル情報をアナログ情報に変換するところにあるのではないかと考えられる。DNA 情報は一つのコピーしかない GATC の塩基配列のデジタル情報で、この DNA の暗号を読み取り、まず、量的には数十倍から数千倍に増幅させた RNA 情報に書き換える。その RNA が液-液相分離したタンパク質のドロップレットに取り込まれることによって、特異的な物性を持つドロップレットが形成される。このドロップレ

トの情報は元の DNA のデジタル情報が反映されたアナログ情報である。同じ物性を待つドロップレットがぶつかると融合でき、物性の違うドロップレットがぶつかっても融合できないことから、相同染色体の認識が実現される。ドロップレットが融合時に発生する力で相同染色体を近づかせ、空間的に対合を実現させる(図3d)。このように、液-液相分離したドロップレットは分子レベルの情報と細胞レベル情報を繋ぐ中間スケールのメディエーターとしての役割を果たすことが明らかで、このような情報の制御機構は未来の ICT 創出に大いに応用できると考えられる。

【参考文献】

- 1 Chikashige, Y., Ding, DQ., Funabiki, H., Haraguchi, T., Mashiko, S., Yanagida, M., and Hiraoka, Y., "Telomere-led premeiotic chromosome movement in fission yeast," *Science*, vol.264 pp.270-273, 1994.
- 2 Ding, DQ., Chikashige, Y., Haraguchi, T., and Hiraoka, Y., "Oscillatory nuclear movement in fission yeast meiotic prophase is driven by astral microtubules as revealed by continuous observation of chromosomes and microtubules in living cells," *J. Cell sci.*, vol.111, pp.701-712, 1998.
- 3 Chikashige, Y., Tsutsumi, C., Yamane, M., Okamasa, K., Haraguchi, T., and Hiraoka, Y., "Meiotic proteins Bqt1 and Bqt2 tether telomeres to form the bouquet arrangement of chromosomes," *Cell*, vol.125, issue 1, pp.59-69, 2006.
- 4 Ding, DQ., Yamamoto, A., Haraguchi, T. et al., "Dynamics of homologous chromosome pairing during meiotic prophase in fission yeast," *Dev. Cell*, vol.6, pp.329-341, 2004.
- 5 Ding, DQ., Okamasa K., Yamane M., Tsutsumi C., Haraguchi T., Yamamoto M., and Hiraoka Y., "Meiosis-specific non-coding RNA mediates robust pairing of homologous chromosomes in meiosis," *Science*, vol.336 pp.732-736, 2012.
- 6 Hayashi A, Ding DQ, Tsutsumi C, Chikashige Y, Masuda H, Haraguchi T, and Hiraoka Y., "Localization of gene products using a chromosomally tagged GFP-fusion library in the fission yeast *Schizosaccharomyces pombe*," *Genes to Cells*. vol.14, pp.217-225, 2009.
- 7 Ding DQ, Y. Tomita, A. Yamamoto, Y. Chikashige, T. Haraguchi, and Y. Hiraoka, "Large-scale screening of intracellular protein localization in living fission yeast cells by the use of a GFP-fusion genomic DNA library," *Genes to Cells*, vol.5, pp.169-190, 2000.
- 8 Ding DQ., Okamasa K., Katou Y., Oya E., Nakayama J, Chikashige Y., Shirahige K., Haraguchi T., and Hiraoka Y., "Chromosome-associated RNA-protein complexes promote pairing of homologous chromosomes during meiosis in *Schizosaccharomyces pombe*," *Nat. Commun.*, 10, 5598, 2019.
- 9 Masui O., Bonnet I., Le Baccon P., Brito I., Pollex T., Murphy N., Hupé P., Barillot E., Belmont AS., and Heard E., "Live-cell chromosome dynamics and outcome of X chromosome pairing events during ES cell differentiation," *Cell*, vol.145, issue 3, pp.447-458, 2011.



丁 大橋 (てい だいきょう)

未来 ICT 研究所
フロンティア創造総合研究室
主任研究員
博士(理学)
分子遺伝細胞生物学