

ゲノムスケールの DNA 設計・合成による細胞制御技術の創出
2019 年度採択研究者

2020 年度 年次報告書

西山 朋子

名古屋大学 大学院理学研究科
准教授

ゲノム三次元構造とゲノム機能をつなぐハブ構造構築

§ 1. 研究成果の概要

本研究では、コヒーシンの依存的に形成されるクロマチンのハブ構造が、遺伝子発現・DNA複製・接着等のゲノム機能の発現を誘起・制御するしくみを一分子レベルで理解し、人工ゲノム設計における制御モジュールとしての利用を目指す。なかでもコヒーシンの形成するDNAループ構造は、ゲノム高次構造の基本モジュールとして重要な役割を担っていると考えられているが、その形成機構は不明な点が多い。2020年度においては、前年度までに構築したDNAループ一分子観察系と、発現・精製・蛍光標識したコヒーシン複合体、およびコヒーシンローダー複合体を用いて、一分子DNAループ形成観察を行い、そのメカニズムを検証した。コヒーシンによる姉妹染色分体間接着には、コヒーシンのATP加水分解活性が必須である。このため、本研究ではまず、DNAループ形成における、コヒーシンのATP加水分解活性の寄与を検証した。DNAループ一分子観察系に、加水分解されないアナログADP/AIF_x複合体を添加したところ、コヒーシンによるDNAループ形成は完全に抑制され、DNAループ形成にATP加水分解活性が必須であることが分かった。さらにATP加水分解に連動して引き起こされるコヒーシンヘッドドメインの解離の必要性を検証するため、ヘッドドメイン同士を強制的に会合させることができるコヒーシン複合体を作製した。このヘッド会合型コヒーシンによるDNAループ形成を観察したところ、ループ形成を完全には阻害しなかったが、非会合型コヒーシンに比べて1/3程度に減少し、DNAループを維持する時間も顕著に短くなった。一方興味深いことに、ヘッド会合型コヒーシンのATP加水分解活性は、非会合型よりもむしろ高かった。これらの結果は、コヒーシンによるATP加水分解とそれに続くヘッドドメイン解離が、それぞれ独立にDNAループ形成に寄与している可能性を示唆している。