

真核ゲノムがもつドメイン型高次構造の起源

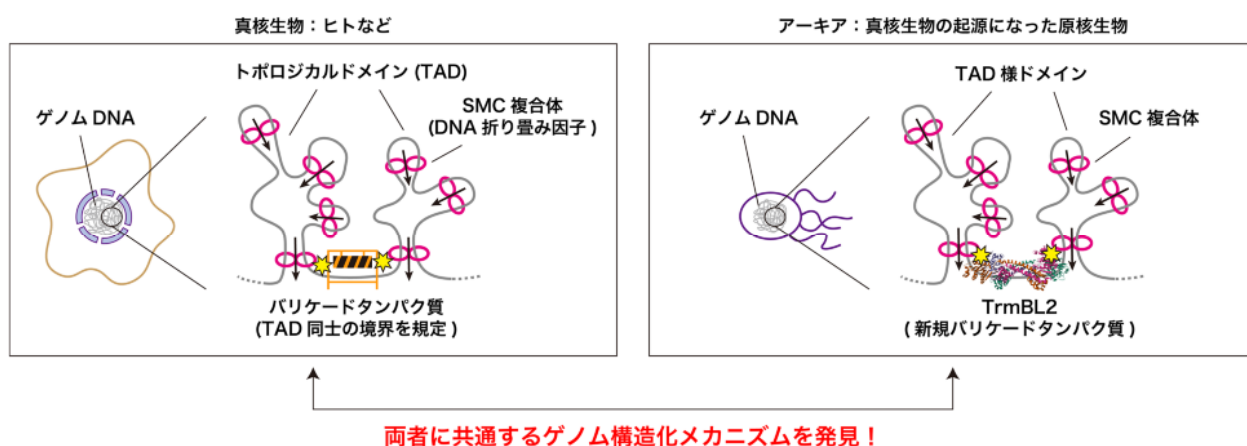
—第三の生物群「アーキア」が鍵？—

概要

真核生物のゲノム DNA は、トポロジカルドメイン（TAD）と呼ばれる塊状の構造ユニットを形成します。TAD は、DNA を折り畳みながら移動する SMC タンパク質と、この移動をせき止めて TAD 同士の境界を規定する「バリケードタンパク質」の働きによって形成され、様々なゲノム機能を制御しています。このような TAD 形成機構はこれまで原核生物には見いだされておらず、その起源は謎に包まれていました。

京都大学大学院工学研究科（跡見晴幸 教授、竹俣直道 助教、山浦昂大 博士課程学生ら）と同大学院理学研究科（高田彰二 教授ら）を中心とする研究グループは、SMC タンパク質とバリケードタンパク質を中核とする TAD 形成機構のひな形が、真核生物の起源となった原核生物である「アーキア」にも存在することを発見しました。本成果は真核生物ゲノムの進化を理解する上で重要な発見であるだけでなく、アーキアがもつ有用物質をゲノム工学的に応用する上でも重要となる可能性があります。

本研究成果は、2025 年 2 月 19 日に英国の国際学術誌「*Nature Communications*」にオンライン掲載されました。



本成果の概要図

アーキアを用いた本研究から、真核生物とアーキアが共通の分子機構を用いてゲノム DNA のドメイン構造を形成していることが明らかになった。

1. 背景

真核生物は、種によっては全長数メートルにも及ぶ長大なゲノム DNA を有しており、この DNA は機能的な三次元構造を保ちながら小さな細胞内に収納されています。近年、Hi-C/3C-seq¹ と呼ばれるゲノム三次元構造解析法が発達したことにより、真核生物のゲノムで TAD と呼ばれる塊状の高次構造が形成されること、そしてこの構造が数珠のように並んでいることがわかってきました。また、TAD が遺伝子同士の近づきやすさを規定することで、遺伝子発現や DNA 修復といった様々なゲノム機能を制御していることも明らかになりつつあります。

真核生物の TAD は、SMC タンパク質というリング状の構造体によって形成されます。SMC タンパク質は自身のリング構造中に DNA 鎖を通すことで DNA ループ構造を形成した後、DNA 上を移動してこのループをどんどん大きくしていきます。この「ループ押し出し」という過程を通じて DNA がコンパクトに折り畳まれることで、TAD の塊状構造が形成されます。また、TAD の形成にはループ押し出しをせき止める、いわば縁石のような役目をするすることで、TAD 同士の境界を規定する「バリエードタンパク質」も必要であることがわかっています。SMC タンパク質は原核生物であるバクテリアにも広く保存されていますが、様々な Hi-C/3C-seq 研究からバクテリアの SMC タンパク質が TAD 形成を行わないことがわかっています。このことから、SMC タンパク質とバリエードタンパク質による TAD の形成機構は真核生物に特有のものだと考えられてきました。

2. 研究手法・成果

本研究では、真核生物型の TAD 形成機構の起源に迫るべく、熱水噴出孔や塩湖などの極限環境に多く生息するアーキアという微生物に着目しました。アーキアはバクテリアとは系統的に異なる原核生物グループであり、真核生物・バクテリアに並ぶ第三の生物群として知られています。また、近年の研究から、最初の真核生物がアーキアから進化してきたことが有力視されるようになっていきます。このことから、研究グループは真核生物型の TAD 形成機構がある種のアーキアにも存在するのではないかと考えました。

研究メンバーの一人である竹俣助教は、高度好熱性アーキアである *Sulfolobus* に対して Hi-C を行うことで、アーキアの詳細なゲノム三次元構造を 2019 年に初めて決定しています。*Sulfolobus* のゲノム三次元構造はいくつかの面において真核生物のものに似た特徴を有していましたが、このアーキアは典型的な SMC タンパク質をもっていない珍しいタイプであったため、この先行研究では真核生物型の TAD 形成機構の存在を検証することができていませんでした。今回研究グループは、*Sulfolobus* とは異なり、真核生物のものに比較的近い SMC タンパク質をもつ超好熱性アーキア *Thermococcus kodakarensis* (以下 *T. kodakarensis* と略す、図 1) を新たな研究対象に選びました。そして、*T. kodakarensis* のゲノム三次元構造を高解像度で解析できる 3C-seq プロトコルを開発し、この手法とゲノム改変を駆使することで、*T. kodakarensis* の SMC タンパク質がゲノム折り畳みに果たす機能を研究しました。その結果、このタンパク質が TAD に似たゲノム高次構造 (以下「TAD 様ドメイン」と記述) の形成を担うことを見いだしました。

真核生物型の TAD 形成機構には、SMC タンパク質だけでなくバリエードタンパク質の存在も欠かせません。*T. kodakarensis* におけるバリエードタンパク質の候補を探索するため、研究グループは TAD 様ドメインの境界部分に相当する DNA 配列を合成し、これに結合するタンパク質を *T. kodakarensis* の細胞抽出液から単離することを試みました。その結果、結合タンパク質として TrmBL2 と呼ばれるタンパク質を同定しました。TrmBL2 を欠失させた *T. kodakarensis* 株を作製して 3C-seq を行ったところ、この株では TAD 様ドメインの境界が消失していました。さらに、TrmBL2 が SMC タンパク質の DNA 上での分布に与える影響を ChIP-seq² で調べたところ、SMC タンパク質が TAD 様ドメインの境界部に蓄積していること、この蓄積に TrmBL2

が必要であることがわかりました。これらの結果から、TrmBL2 が実際に SMC タンパク質をせき止めるバリエードタンパク質であることがわかりました。

興味深いことに、ChIP-seq の結果から、TrmBL2 は TAD 様ドメインの境界部以外でも SMC タンパク質をせき止める一方、これらの領域では SMC タンパク質をせき止める効率が低いためドメインの境界形成には至らないことも明らかになりました。TrmBL2 が SMC タンパク質をせき止める効率が何によって規定されるかを解析したところ、この効率は TrmBL2 の結合 DNA 領域に存在する A トラクト配列³の数と相関することがわかりました。A トラクト配列は、折れ曲がりにくい DNA 鎖構造を形成するなど特殊な物性を示すことが知られています。このことから、TrmBL2 が SMC タンパク質をせき止めるためには DNA の配列特異的な物性も重要である可能性が示唆されました。

以上のように、本研究では SMC タンパク質とバリエードタンパク質を基盤とする TAD 形成機構のひな形がアーキアに存在することを明らかにしました。TAD は、真核生物ゲノムの複雑な機能を制御する上で非常に重要な高次構造です。本成果は、このような構造の進化的起源について重要な洞察をもたらすものといえます。また、本研究はこれまであまり注目されてこなかった DNA 配列の物性とゲノム三次元構造の関係にも光を当てる興味深いものとなっています。

3. 波及効果、今後の予定

アーキアは、真核生物との進化的つながりや極限環境への高い適応能力をもつだけでなく、珍しい代謝経路なども多く有しています。アーキアがもつこれらのユニークな性質は、産業面でも高いポテンシャルを秘めています。例えば、*T. kodakarensis* のタンパク質がもつ高い耐熱性は、DNA の複製を行う PCR 法でも利用されていますし、また *T. kodakarensis* はキチンという豊富な生物由来有機物から水素を産生できるため、バイオ燃料生産の面でも注目されています。このようなアーキアの有用性質を理解・応用していくためにはアーキアゲノムの基本的理解が欠かせませんが、アーキアは真核生物やバクテリアと比較して未だ研究が大きく遅れています。本研究をきっかけとしてアーキアゲノムの構造と機能の理解が進めば、アーキアの産業応用も大きく進むのではないかと期待しています。

一方、本研究では、*T. kodakarensis* がもつ TAD 様ドメインの生理的機能は明らかにはできませんでした。今後はこの点についてさらなる研究が必要であると考えています。

4. 研究プロジェクトについて

本研究は九州大学との共同研究であり、国立研究開発法人科学技術振興機構（JST）戦略的創造研究推進事業 さきがけ（JPMJPR20K7）、同 創発的研究支援事業（JPMJFR224V）、同 科学技術イノベーション創出に向けた大学フェローシップ創設事業（JPMJFS2123）、同 次世代研究者挑戦的研究プログラム（JPMJSP2110）、日本学術振興会 科学研究費助成事業（JP21K20636、JP23H04281、JP20H05934、JP19K22289）、武田科学振興財団、上原記念生命科学財団の支援を受けて実施されました。

<用語解説>

1. Hi-C/3C-seq：DNA 配列決定（シーケンシング）解析を用いたゲノム三次元構造解析法。Hi-C と 3C-seq で細かい違いはあるが、基本的な原理は共通である。これらの手法では、まず細胞内で近接する DNA 領域同士をホルマリンで固定した後、配列特異的な DNA 切断酵素で処理し、これによって生じた DNA 末端同士を繋ぎ合わせる。その結果生じた新しい DNA 配列を DNA シーケンシング装置で読むことで、相互作用してい

た DNA 領域のペアを網羅的に決定し、このデータをもとに各ゲノム区画同士の空間的近接度を定量する。

2. ChIP-seq：DNA シーケンシング解析を用いたタンパク質局在解析法。目的タンパク質に対する抗体を用いることで、このタンパク質が結合したゲノム領域断片を精製し、その配列を読むことで目的タンパク質の結合ゲノム領域を決定する。

3. A トラクト配列：アデニン（A）およびチミン（T）のみを含む 4 塩基以上の DNA 塩基配列のうち、TA という部分配列を含まないもの。

<研究者のコメント>

「アーキアは未だ謎の多い風変わりな生き物ですが、その分子生物学的性質の一端を解明できたことを嬉しく思います。今後もアーキアという変わり種の研究材料から面白い成果を発信できればと思います。」（竹俣直道）

<論文タイトルと著者>

タイトル：Chromosomal domain formation by archaeal SMC, a roadblock protein, and DNA structure

（アーキア SMC、バリエードタンパク質、および DNA 構造を介した染色体ドメイン構造の形成）

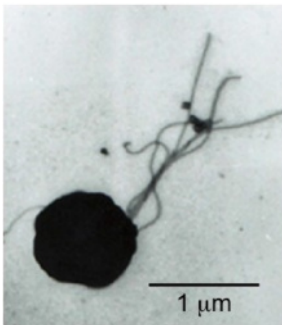
著 者：Kodai Yamaura, Naomichi Takemata, Masashi Kariya, Ayami Osaka, Sonoko Ishino, Masataka Yamauchi, Tomonori Tamura, Itaru Hamachi, Shoji Takada, Yoshizumi Ishino, Haruyuki Atomi

掲 載 誌：Nature Communications

DOI：10.1038/s41467-025-56197-y

<参考図表>

(A)



(B)



図 1. 本研究で使用した超好熱性アーキア *T. kodakarensis*

（A）*T. kodakarensis* の電子顕微鏡像 （B）*T. kodakarensis* の培養の様子。酸素を可能な限り減らした培養液を 85℃ という高温下に置くことで培養を行う。