

核内 DNA による核形態制御機構の解明

山口大学大学院創成科学研究科

原 裕貴

1. はじめに

真核生物がもつ核は、細胞質からDNAを物理的に隔離するだけでなく、転写や複製といったDNAの機能の場としての役割を果たす。生体内では、核膜との相互作用を介した核ラミナ結合ドメインといった核内クロマチンの高次構造を形成し、それを周囲の環境や細胞運命の変化に合わせてダイナミックに変化させることでDNAの機能を制御する [1]。それに加え、DNA機能を発揮する場である核の大きさ(サイズ)という「空間情報」も大きく変化することが知られている [2]。特に多細胞生物の初期胚発生過程では、転写活性と核サイズが短時間で劇的に変化する。アフリカツメガエルを例にすると、受精後5-6時間に、抑制されていた転写状態が活性化し [3]、核の体積は10倍以上減少する [4]。核膜とクロマチンの相互作用を考慮すると、核サイズの変化がクロマチンの高次構造を制御する可能性、あるいはクロマチン構造が核の形態を制御する可能性が推察される。実際に、核のサイズや形態はDNA機能と密接な関係性を示し、癌や老化などの細胞機能の異常と核の形態異常は同時に観察される例が数多く報告されている [5]。しかし、核内のDNA及びクロマチンの構造が核サイズを制御する因果関係を示す決定的な解析は行われておらず、その作業機序については現状では理解が及んでいない。

先行研究より、核サイズの制御機構は2つに大別され、核内タンパク質の輸送や膜脂質の供給に依存する機構 [6, 7] と、核内のDNAの量に依存する機構 [8] が提案されている。単一の生物種内の細胞においては、殆どの細胞種においてDNA複製以外の核内DNA量が変化しないため、これまでの分子・細胞生物学的解析は前者の機構が優先されてきた。後者の機構に関しては、先行研究における核サイズと核内ゲノム量の生物種間の比較を通して、核内DNAの量と核サイズとの相関関係は古くから観察されていたが [8]、現状として制御機構は全く理解されていない。本研究では、この後者の機構に該当する、核内のDNA量が核サイズを制御する機構についての解析を行った。

2. 方法

アフリカツメガエルの卵細胞質抽出液を用いた無細胞系を利用し、実験的に核内DNA量を変化させた条件で核サイズへの影響を検証した。この無細胞系では、調整した細胞質抽出液中に核DNA材料として、雄のツメガエルより単離した精子クロマチンを添加・培養することで、試験管内で核を再構成することが可能である。核内DNA量に摂動を与えるために、通常生じる全ゲノムの複製の阻害、およびゲノムサイズの異なる生物由来の精子クロマチンを核

DNA材料と使用した。さらに、その他阻害剤・試薬の添加により様々な細胞質環境に摂動を与えた条件で、再構成した核のサイズ増大の様子を定量した。

3. 結果

無細胞系において、アフリカツメガエル精子クロマチンから核を再構成させた場合と比較し、DNA複製阻害剤である aphidicolin を加えることで、核サイズの増大速度ならびに予想される核サイズの最大到達値が低下することが明らかとなった。また、アフリカツメガエル精子クロマチンの代わりに、姉妹種でありゲノムサイズが約半分であるネツタイツメガエル精子クロマチンを用い核の再構成を行うと、同様に核サイズの増大速度と最大到達値は低下した。これらの結果は、DNAの配列やコードする遺伝子に関わらず、核内のDNAの量依存的に核サイズの増大が制御されることを示唆している。

観察された特徴の基礎を成す制御機構の理解を深めるために、まずは既知の核サイズ決定因子が存在する細胞質の環境 [6, 7] に摂動を与えた条件で核を再構成させた。その結果、細胞質に局在する核サイズ増大活性を抑制することで、核サイズ増大速度そのものは低下するものの、核内DNA量依存的な核サイズ増大の特徴には影響が及ばなかった。この結果は、既知の細胞質環境により制御される機構とは独立し、核内DNAが核サイズ決定機構に関与する新規制御機構の存在を示唆している。

4. まとめ・考察

本研究により、新たに核内DNA量依存的な核サイズの増大に関するパラメータ:増大速度と最大サイズを特定した。さらに、これらの特徴は既知の細胞質からの制御機構とは異なり、新規機構により制御される可能性を示した。DNAは殆どの生物種に共通する遺伝情報であることから、本研究で特定したDNA量依存的な特徴と推定される制御機構は真核生物に共通する機構であることが推定される。一般的に癌細胞のような病態を示す細胞では、核内DNA量異常 [9] と核サイズ・形態の異常 [5] が同時に検出される。DNA量依存的な核サイズ制御の分子機構が将来的に解明されれば、この機構の人為的な操作により病態細胞で見られる核形態の異常を改善する可能性を秘めている。

5. 参考文献

- [1] van Steensel B, Belmont AS (2017). Lamina-Associated Domains: Links with Chromosome Architecture, Heterochromatin, and Gene Repression. *Cell*, 169(5): 780-791.
- [2] Mukherjee RN, Chen P, Levy DL (2016). Recent advances in understanding nuclear size and shape, *Nucleus*, 7(2): 167-186.
- [3] Newport & Kirshner (1982). A major developmental transition in early *Xenopus* embryos: I. characterization and timing of cellular changes at the midblastula stage. *Cell*, 30(3):675-86.
- [4] Jevtić P, Levy DL (2015) Nuclear size scaling during *Xenopus* early development contributes to midblastula transition timing. *Curr Biol*, 25(1): 45-52
- [5] Edens LJ, White KH, Jevtic P, Li X, Levy DL (2013). Nuclear size regulation: from single cells to development and disease. *Trends Cell Biol*, 23(4): 151-9.

- [6] Levy DL, Heald R (2010). Nuclear size is regulated by importin α and Ntf2 in *Xenopus*. *Cell*, 143(2): 288–98.
- [7] Hara Y, Merten CA (2015). Dynein-Based Accumulation of Membranes Regulates Nuclear Expansion in *Xenopus laevis* Egg Extracts. *Dev Cell*, 33(5): 562–575.
- [8] Cavalier-Smith T (1982). Skeletal DNA and the evolution of genome size. *Annu Rev Biophys Bioeng*, 11, 273–302.
- [9] Landry JJ, Pyl PT, Rausch T, Zichner T, Tekkedil MM, Stütz AM, Jauch A, Aiyar RS, Pau G, Delhomme N, Gagneur J, Korbel JO, Huber W, Steinmetz LM (2013). The genomic and transcriptomic landscape of a HeLa cell line. *G3*, 3(8): 1213–24.