

Press Release

研究成果



分野: 生命科学・医学系 キーワード: 染色体、細胞分裂、マグネシウムイオン、生細胞イメージング、蛍光タンパク質

細胞分裂期の染色体凝縮はマグネシウムイオンの増加によって起こる —生細胞イメージングにより新たなメカニズムを検証—

【研究成果のポイント】

- ◆ 高性能蛍光マグネシウムセンサーを開発。
- ◆ 生細胞イメージングにより細胞分裂の際のマグネシウムイオンの濃度上昇を観測することに成功。
- ◆ ATP に結合していたマグネシウムイオンが ATP の消費により放出されることでその濃度が上昇。
- ◆ マグネシウムイオンが分裂期の細胞内での染色体凝縮に関わっていることを初めて証明。
- ◆ 染色体形成の異常が引き起こす疾病の解明への貢献に期待。

❖ 概要

細胞が分裂する際、ヒトでは全長 2 メートルにもおよぶゲノム DNA^{※1}からコンパクトに凝縮した「染色体」と呼ばれる DNA の束が作られ、2 つの細胞に正確に分配されていきます。半世紀以上前、細胞に大量に存在するマグネシウムイオン(Mg²⁺)^{※2}がゲノム DNA 凝縮の鍵となりうることを提唱されたことがありましたが、当時は細胞内 Mg²⁺濃度を測定する手段が無かったため証明されぬまま忘れられていました。

国立遺伝学研究所の前島一博 教授、大阪大学の永井健治 教授、慶應義塾大学の岡浩太郎 教授、京都大学の今村博臣 准教授らの共同研究グループは、蛍光タンパク質技術を駆使して Mg²⁺濃度の変化を高感度で感知できる蛍光センサー MARIO を開発し、生細胞内の Mg²⁺濃度を蛍光イメージングにより可視化することに成功しました。そして細胞分裂の際に Mg²⁺濃度が一過的に上昇することを示すとともに、負の電気を帯びている DNA 同士の反発を弱め、染色体の凝縮を促進していることを明らかにしました(図 1)。本研究によって、実際に Mg²⁺が細胞のなかで染色体の凝縮にかかわっていることが初めて証明されました。

染色体の形成の失敗はゲノム DNA の損傷を引き起こし、細胞に「死」や「がん化」などのさまざまな異常、さらには疾病をもたらすと考えられています。また細胞のなかに多量に存在する Mg²⁺は多くのタンパク質の働きを助けており、欠乏するとさまざまな細胞異常が現れることが知られています。今回の蛍光センサー開発と生物学的知見の発見は、このような細胞の異常が起こるしくみの解明につながると期待されます。

本研究成果は、2018 年 1 月 19 日(金)(日本時間)に「Current Biology」に掲載されました。

❖ 研究の背景

私たちの体は約 40 兆個の細胞からできていて、その 1 個 1 個に全長約 2 メートルにも達するゲノム DNA が収められています。ゲノム DNA は、細胞が分裂する際に切れたり、絡まったりするのを防ぐために凝縮し、染色体と呼ばれる 46 本の DNA の束になります(図 1)。近年、コンデンシン^{※3}などの染色体を形作るタンパク質が同定され、染色体レベ

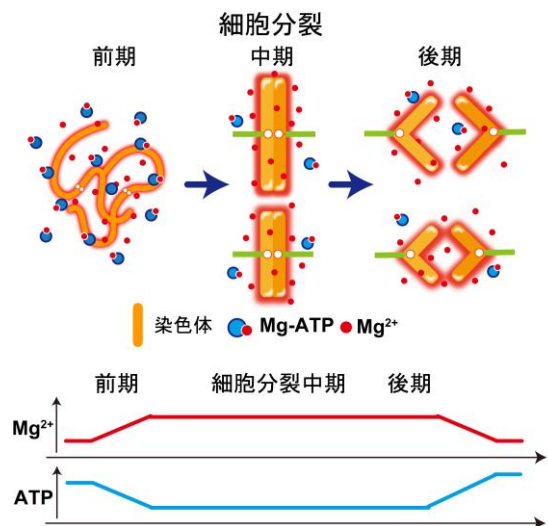


図 1

細胞が分裂する際に Mg²⁺が増加し、染色体の凝縮が促進される。ATP の減少により Mg-ATP から遊離した Mg²⁺が供給される。

Press Release

ルでの凝縮メカニズムが明らかにされてきました。

DNAは直径2ナノメートル^{※4}のとても細い糸で、負(マイナス)の電荷を持っています。DNAは正(プラス)の電荷を有するヒストンと呼ばれる糸巻きに巻かれて、直径約11ナノメートルのヌクレオソーム線維を作ります。しかしながらヌクレオソームには負の電荷が残っていて、互いに反発するため、細胞などの小さな空間に折り畳むことができません(図2)。そこで、細胞内に多量に存在するMg²⁺がヌクレオソームの負電荷を中和して反発を弱め、染色体の凝縮を引き起こすのではないかと半世紀以上前から予想されていました。しかしながら、細胞内に単独で存在しているMg²⁺の変化を測定する手法がなかったため、本当にMg²⁺が染色体凝縮に働いているのかは長い間謎のままでした。

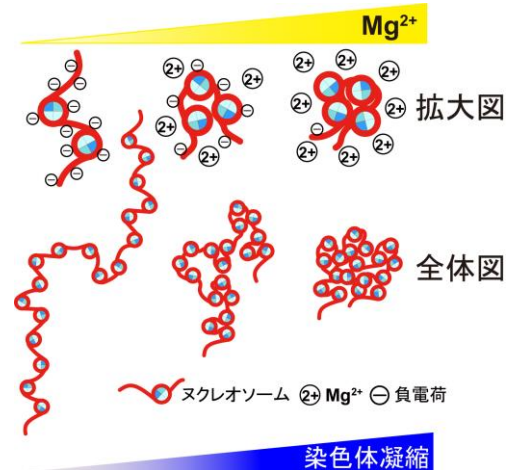


図2

DNAがヒストンに巻かれたヌクレオソームの線維は負電荷を持つため、反発して伸びている(左)。Mg²⁺が増えてくると負電荷が中和され、反発が抑えられることによりヌクレオソーム同士が結合し、染色体の凝縮が進む(右)。

❖ 本研究の成果

本研究では、まず大腸菌が有するMg²⁺輸送タンパク質(CorA)のMg²⁺結合ドメインに2種類の蛍光タンパク質を組み合わせることで、単独で存在しているMg²⁺の変化を調べることができる高感度Mg²⁺センサーMARIO(MAGnesium Ratiometric Indicator for Optical imaging)を開発しました(図3)。従来も蛍光Mg²⁺センサーが開発されていましたが、細胞内のMg²⁺の濃度を計測するには結合力が強すぎ、かつMg²⁺が結合した時の蛍光シグナルの変化が微小なため、細胞内のMg²⁺の変化を検出できませんでした。一方、MARIOはMg²⁺の結合によりその蛍光色が青から黄緑に大きく変化し、かつ細胞内のMg²⁺濃度(mMレンジ)に合わせた結合力で調律されました。このMARIOの遺伝子を生細胞内に導入してセンサータンパク質を産生させ蛍光顕微鏡で観察することにより、細胞が分裂する際にMg²⁺濃度が上昇することを発見しました(図1)。一方で、もう一つの細胞内の重要なイオンであるカルシウムイオン(Ca²⁺)の濃度を、研究グループが以前開発したCa²⁺の変化を調べることができる蛍光センサーYC3.60で調べたところ、ほとんど変化しませんでした。

それではこの増加したMg²⁺はどこからやってきたのでしょうか？細胞内のMg²⁺の多くはATP^{※5}やタンパク質と結合していることが知られています。そこで細胞内のATP量の変化を調べてみると、細胞が分裂する際に濃度が減少していました。細胞分裂を進めるために、エネルギーを貯蔵しているATPが多く消費されるからです。その際にATPに結合していたMg²⁺が放出され、Mg²⁺濃度が上昇し、染色体の凝縮が

促進されると考えられます(図1)。実際に、ATP量を減らすとMg²⁺濃度が上昇し、染色体はさらに凝縮を起こしました。逆にMg²⁺濃度を低下させると、染色体は脱凝縮(ゆるむ)しました。Mg²⁺は反発するヌクレオソームの電荷を弱め、ヌクレオソームを互いに近づけて、染色体凝縮を促進していると考えられます(図2)。本成果は、ゲノムDNAの「新たな凝

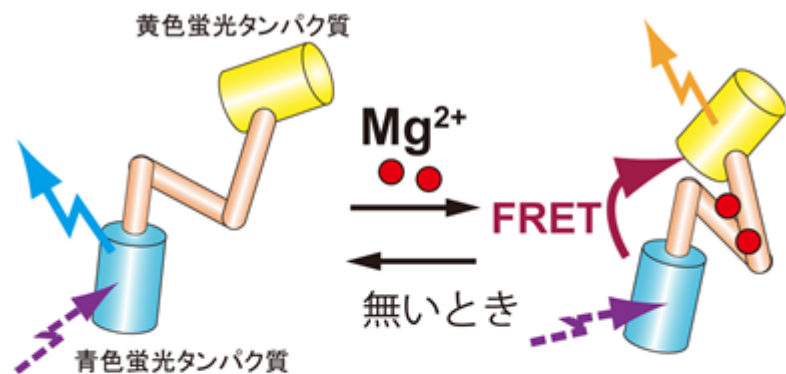


図3

新しい蛍光Mg²⁺センサーMARIOの検出原理 青色と黄色の2種類の蛍光タンパク質が、検出タンパク質(肌色)でつながれている。Mg²⁺が検出タンパク質に結合すると、2種類の蛍光タンパク質が引き寄せられ、FRET^{※6}と呼ばれるエネルギーの移動が起こり、紫の光を照射したときに放射される蛍光の色が青から黄にシフトする。



Press Release

縮メカニズム」を提唱するものです。

❖ 本研究成果が社会に与える影響（本研究成果の意義）

細胞分裂の際に染色体が正常に作られないと、遺伝情報が均等に受け継がれなくなり、遺伝情報の発現異常が起こります。また、DNA が損傷することによって細胞死やがん化などのさまざまな異常が起こると考えられています。さらに、 Mg^{2+} は細胞内に多量に存在して多くのタンパク質の働きを助けており、欠乏するとさまざまな細胞異常が現れることが知られています。本研究で得られたゲノム DNA が凝縮する仕組みや、蛍光 Mg^{2+} センサーMARIO の利用により、細胞機能の破綻によって引き起こされる関連疾病の理解が進むことが期待されます。

❖ 特記事項

タイトル：“A transient rise in free Mg^{2+} ions released from ATP-Mg hydrolysis contributes to mitotic chromosome condensation.”

(ATP-Mg の加水分解によってリリースされたフリーの Mg^{2+} の一過的な増加が染色体凝縮に貢献する。)

著者名: Kazuhiro Maeshima, Tomoki Matsuda, Yutaka Shindo, Hiromi Imamura, Sachiko Tamura, Ryosuke Imai, Syoji Kawakami, Ryosuke Nagashima, Tomoyoshi Soga, Hiroyuki Noji, Kotaro Oka, Takeharu Nagai

(前島一博、松田知己、新藤豊、今村博臣、田村佐知子、今井亮輔、川上祥司、永島峻甫、曾我朋義、野地博行、岡浩太郎、永井健治)

本研究は、国立遺伝学研究所・前島一博教授・田村佐知子テクニカルスタッフグループ、大阪大学産業科学研究研究所・永井健治教授・松田知己准教授グループ、慶應義塾大学理工学部・岡浩太郎教授・新藤豊特任助教グループ、京都大学生命科学研究科・今村博臣准教授・東京大学工学研究科・野地博行教授グループ、慶應義塾大学環境情報学部・曾我朋義教授グループの共同研究成果です。

また、本研究は文部科学省科学研究費・新学術領域「少数性生物学」(領域代表:大阪大学 永井健治教授)、科学技術振興機構 戦略的創造研究推進事業(CREST) (JPMJCR15G2, JPMJCR15N3)、および科学研究費(16H04746)、日本医療研究開発機構の革新的先端研究開発支援事業 AMED-CREST の支援を受けました。

❖ 用語説明

※1 DNA(デオキシリボ核酸)

DNA は、生命の設計図であり、2 本のごく細い鎖が、同じ軸を中心にらせんを巻いた構造をしている。2 本の鎖の外側は負(マイナス)に帯電したリン酸で、その内側に遺伝暗号となる「塩基対のはしご」がかけられている。二重らせんの直径は約 2 ナノメートルで、DNA を伸ばすと、ヒトで全長は 2 メートルにおよぶ。

※2 マグネシウムイオン(Mg^{2+})

カルシウムイオン(Ca^{2+})と同様に生体に必須な二価の陽(プラス)イオン。細胞内の ATP や多くのタンパク質と結合し、それらの働きを助けている。欠乏する細胞にさまざまな異常が現れることが知られている。また、本研究で明らかになったように、正の電荷を持つため、ゲノム DNA のマイナス電荷を打ち消し、染色体凝縮を助けることができる。

※3 コンデンシン

染色体形成に必須とされている 5 つのタンパク質よりなる複合体。染色体中に軸のように存在する。現・理研主任研究員・平野達也らのグループによって 1997 年に発見された。



Press Release

※4 ナノメートル

1メートルの10の9乗分の1(10^{-9})。

※5 ATP (アデノシン三リン酸)

生体の「エネルギー通貨」と言われ、細胞内のさまざまな営みのエネルギー源となっている。細胞の中では Mg^{2+} と結合し ATP-Mg として存在している。本研究により、細胞分裂の際、ATP が消費されると Mg^{2+} が放出され、 Mg^{2+} 濃度の増加につながる事が明らかになった。

※6 FRET (Förster resonance energy transfer、フレット)

近接した2個の蛍光タンパク質(図3)の間で励起エネルギーが光の放出を伴わずに移動する現象。図3では、青色蛍光タンパク質(供与体)で吸収された光のエネルギーによってもう一方の黄色蛍光タンパク質(受容体)にエネルギーが移動し、蛍光が放出される。図3のMARIO内の検出タンパク質部分に Mg^{2+} が結合すると、2種類の蛍光タンパク質が近くに引き寄せられて FRET 現象が起こる。