

## 研究成果報告書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) AB		染色体構造・機能に依存した染色分体間接着の制御機構			
研究テーマ (欧文) AZ		Understanding of the chromatin structure-dependent cohesin function.			
研究氏 代表名 者	カタカナ CC	姓) ニシヤマ	名) トモコ	研究期間 B	2015 ~ 2017 年
	漢字 CB	西山	朋子	報告年度 YR	2017 年
	ローマ字 CZ	Nishiyama	Tomoko	研究機関名	名古屋大学
研究代表者 CD 所属機関・職名		名古屋大学大学院 理学研究科 生命理学専攻・准教授			
概要 EA (600字~800字程度にまとめてください。)					
<p>姉妹染色分体間接着に必須であるコヒーシンは、それ自身や結合・修飾因子の変異が四肢形成不全など多様な症状を伴う遺伝性疾患(コヒーシン病)を引き起こす。その直接的な原因は未だに不明であり、本研究では、異なるクロマチン環境下においてコヒーシンの振る舞いを一分子レベルで理解することにより、コヒーシン病発症のしくみを明らかにすることを目指した。</p> <p>はじめに、ヌクレオソームとコヒーシンおよびコヒーシンローダー-Scc2-Scc4 複合体を可視化する一分子観察系を構築した。アビジンをコートしたカバーガラス上にλファージ由来のλ DNA(50 kb)の両端を結合させ、このカバーガラスをflow cellにセットし、DNAをコヒーシン複合体やツメガエル卵抽出液に晒すことでDNAが生理的な条件下でヌクレオソームを形成できる系を構築した。ヌクレオソームの形成は、ヒストン H2AX とヒストン H3 の取り込みで確認した。蛍光標識コヒーシンは、Halo タグを付加した Scc1 を含むツメガエルコヒーシン複合体を昆虫細胞 Sf21 で発現・精製し、Halo タグに Alexa 蛍光色素をカップリングさせたものを用いた。Scc2-Scc4 ヘテロダイマーは Scc2 に対する抗体を蛍光標識することで可視化した。</p> <p>ヌクレオソーム環境と接着因子コヒーシンの局在の関係性を明らかにするため、未複製 DNA 上でヌクレオソーム密度とコヒーシンの局在を調べたところ、コヒーシンはヌクレオソーム密度の低い領域に集積する傾向にあることがわかった。一方コヒーシン自体のクロマチン上での動きを観察すると、コヒーシンは DNA 上で自由拡散運動を示すこと、また、この運動はコヒーシン Smc3 サブユニットのアセチル化によって促進されることが明らかになった。また DNA 複製進行中のコヒーシンの動きを調べたところ、可動性を失ったコヒーシンが複製をブロックする可能性があることが明らかになった。以上の結果は、コヒーシンのアセチル化がコヒーシンの可動性、延いては DNA 複製の進行にとって重要であり、コヒーシン病の原因変異の一つであるコヒーシンアセチル化酵素 Escp2 の変異と疾患との関わりを示唆する重要な手がかりとなるものと考えられる。</p>					
キーワード FA	姉妹染色分体間接着	コヒーシン病	DNA 複製		

(以下は記入しないでください。)

助成財団コード TA					研究課題番号 AA									
研究機関番号 AC					シート番号									

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）									
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>	Cohesin acetylation and Wapl-Pds5 oppositely regulate translocation of cohesin along DNA							
	著者名 <sup>GA</sup>	Kanke et al.	雑誌名 <sup>GC</sup>	The EMBO Journal					
	ページ <sup>GF</sup>	2686~2698	発行年 <sup>GE</sup>	2	0	1	6	巻号 <sup>GD</sup>	35(24)
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>								
	著者名 <sup>GA</sup>		雑誌名 <sup>GC</sup>						
	ページ <sup>GF</sup>	~	発行年 <sup>GE</sup>					巻号 <sup>GD</sup>	
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>								
	著者名 <sup>GA</sup>		雑誌名 <sup>GC</sup>						
	ページ <sup>GF</sup>	~	発行年 <sup>GE</sup>					巻号 <sup>GD</sup>	
図書	著者名 <sup>HA</sup>								
	書名 <sup>HC</sup>								
	出版者 <sup>HB</sup>		発行年 <sup>HD</sup>					総ページ <sup>HE</sup>	
図書	著者名 <sup>HA</sup>								
	書名 <sup>HC</sup>								
	出版者 <sup>HB</sup>		発行年 <sup>HD</sup>					総ページ <sup>HE</sup>	

欧文概要<sup>EZ</sup>

Cohesin is a ring-shaped protein complex that plays a crucial role in sister chromatid cohesion and gene expression. The dynamic association of cohesin with chromatin is essential for these functions. However, the exact nature of cohesin dynamics, particularly cohesin translocation, remains unclear. We evaluated the dynamics of individual cohesin molecules on DNA and found that the cohesin core complex possesses an intrinsic ability to traverse DNA in an adenosine triphosphatase (ATPase)-dependent manner. Translocation ability is suppressed in the presence of Wapl-Pds5 and Sororin; this suppression is alleviated by the acetylation of cohesin and the action of mitotic kinases. In *Xenopus laevis* egg extracts, cohesin is translocated on unreplicated DNA in an ATPase- and Smc3 acetylation-dependent manner. Cohesin movement changes from bidirectional to unidirectional when cohesin faces DNA replication; otherwise, it is incorporated into replicating DNA without being translocated or is dissociated from replicating DNA. This study provides insight into the nature of individual cohesin dynamics and the mechanisms by which cohesin achieves cohesion in different chromatin contexts.