

**【目的】**液-液相分離は、溶液が均質に混じりあわず2相に分離する現象で、*Science* 誌の2018年の“Breakthrough of the Year”に選ばれるなど、近年注目を集めている。液-液相分離は、特定のタンパク質やRNAのある領域への濃縮に寄与し、核小体などの膜を持たないオルガネラの形成、ヘテロクロマチンの形成と転写調節、オートファジーの制御など、多様な生命現象に関与することがわかりつつある。我々は、分裂期（M期）染色体からRNAを除去することにより、染色体骨格タンパク質コンデンシンIの染色体結合量が減少することを見出した。コンデンシンIサブユニットに液-液相分離に関与する天然変性領域（IDR）が複数箇所存在すること、液-液相分離がRNAによって促進されることから、RNAにより促進された液-液相分離がコンデンシンIのM期染色体の軸領域への濃縮に寄与するとの仮説をたてた。本研究では、RNAとコンデンシンIとの液-液相分離を検証し、M期染色体の構造制御における液-液相分離の生理学的な意義を解明することを目的とした。

**【方法】**M期染色体をスライドグラスに固定し、RNase A 処理によりRNAを除去して染色体を構成するタンパク質の局在、及びM期染色体の形態を詳細に観察した。また、M期に同調した細胞に液-液相分離の阻害剤1,6-ヘキサンジオール（1,6-HD）を添加して、染色体の形態、及びコンデンシンIの局在変化を調べた。さらに、1,6-HD除去と同時に、レンサ球菌の酸素感受性毒素ストレプトリジンO（SLO）を用いて細胞膜に一時的に孔をあけた細胞を、RNase A 存在下、非存在下で回復培養して、コンデンシンIの局在を調べた。さらに、精製したコンデンシンIにM期細胞から精製したRNAを添加し、液滴の形成を観察することにより、試験管内で液-液相分離の検証を行った。

**【結果】**スライドグラスに固定したM期染色体をRNase A 処理したところ、M期染色体が脆弱で細くなり周囲に繊維が伸びる構造変化が生じることを見出した。この構造変化は、機械学習による生体画像のパターン認識により定量化できた。また、RNase A 処理によって、コンデンシンIの染色体局在が約50%に低下した。一方で、RNA polymerase I 阻害剤の添加により、M期染色体表層部位のタンパク質局在は消失したが、コンデンシンIの局在は変化しなかった。この結果は、rRNA以外のRNAがコンデンシンIの染色体局在に関与することを示唆する。また、M期に同調した細胞を1,6-HD処理をしたところ、1,6-HDの濃度依存的、時間依存的にコンデンシンIが染色体から解離した。1,6-HDを除去することによってコンデンシンIの染色体局在は回復したが、同時にRNase A 処理をしたところコンデンシンIは染色体から解離したままであった。また、精製したコンデンシンIにM期細胞から精製したRNAを添加したところ、液滴が形成された。以上の結果は、RNAがコンデンシンIの液-液相分離を促進することを、試験管レベル、及び細胞レベル支持する。以上の研究結果から、RNAにより促進された液-液相分離がコンデンシンIの染色体の軸への濃縮に寄与し、コンデンシンIのDNAループ形成能力と相まってM期染色体骨格を形成するとのモデルを提示したい。

液-液相分離によるコンデンシンIの染色体軸への濃縮とM期染色体構築（モデル）

