



繰り返し配列の DNA がヘテロクロマチン化される仕組みを解明

～40 年来の謎に答える新しいモデルを提唱～

ポイント

- ・ 繰り返し配列の DNA がヘテロクロマチン化される現象を人為的な系で再現することに成功。
- ・ ヘテロクロマチンを除去する因子が、繰り返し配列ではヘテロクロマチン化を促進することを解明。
- ・ 提唱された新しいモデルに基づく病気の治療法の探索に期待。

概要

北海道大学大学院理学研究院の村上洋太教授及び浅沼高寛学術研究員、東京大学大学院理学系研究科の稲垣宗一准教授、角谷徹仁教授及び東京大学先端科学技術研究センターの油谷浩幸シニアリサーチフェローらの研究グループは、真核細胞において繰り返し配列の DNA が選択的にヘテロクロマチン化される仕組みの一端を明らかにすることに成功しました。

真核生物の DNA は、ヒストンと呼ばれる蛋白質に巻き付いた数珠状の構造になって核内に収められています。この構造はクロマチンと呼ばれ、その性質からユークロマチンとヘテロクロマチンに大別されます。ユークロマチンでは DNA 上の遺伝子は活発に発現する一方、ヘテロクロマチンでは遺伝子の発現が強制的に抑制されます。この対照的な 2 つの状態は DNA が巻き付いているヒストンの化学修飾によって決まっており、例えばヘテロクロマチンの場合、そのメチル化修飾(H3K9me 修飾)によって特徴づけられることが知られています。このようなクロマチンの状態を介した遺伝子の発現制御は様々な生命現象に関与しており、真核細胞が持つ根本的な仕組みの一つだと考えられています。

興味深いことに、その研究過程の 1980 年代から、ヘテロクロマチンは繰り返し配列になった DNA 領域において形成される傾向があることが指摘されてきました。この傾向は、特定の塩基配列を基本単位とする繰り返し配列に限らず、遺伝子全体が重複して繰り返しになった場合も同様にみられることが現在までに分かっています。これらの事実は、真核細胞は何かしらの方法で DNA 配列が“繰り返しになっている”という特徴を認識し、その領域におけるヘテロクロマチン形成を促進しているということを示唆しています。しかし、その仕組みは未だ明らかになっていません。

今回研究グループはモデル生物である分裂酵母を用いてこの現象を人為的に再現し、本来はヘテロクロマチンを除去する(つまりは H3K9me 修飾を除去する)蛋白質が、繰り返し DNA 配列では RNAi という機構を介して逆にヘテロクロマチン形成(つまりは H3K9me 修飾)を促進するという、相反する 2 つの役割を果たしていることを明らかにしました。この結果は、「なぜヘテロクロマチンは繰り返し DNA 配列で選択的に形成されているのか」というこれまでの問いに答える新しいモデルを提唱するものです。

繰り返し配列によるヘテロクロマチン形成は生物種を問わず様々な生命現象に関与しており、例えばヒトにおいてもその不具合によって発症する病気があることが知られています。そのため、そのメカニズムの解明は真核細胞のもつ根本的な仕組みの理解のみならず、今後ヒトにおける病気の治療法の探索にも有用であると考えられます。

なお、本研究成果は、2022 年 12 月 20 日(火)公開の Genes & Development 誌にオンライン掲載されました。

【背景】

真核生物のゲノム DNA は、一定間隔でヒストンと呼ばれる蛋白質に巻き付いた数珠のような構造になって核内に収められています (図 1)。この構造はクロマチンと呼ばれ、その性質からユークロマチンとヘテロクロマチンの 2 種類に大別されることが知られています。ユークロマチンは言わば数珠が弛緩した状態になっており、その DNA 上の遺伝子は活発に発現しています。一方ヘテロクロマチンは数珠が凝集し、遺伝子の発現が強制的に抑制された不活性 (サイレント) な状態になっています。この 2 つの対照的な状態は DNA が巻き付いているヒストンの化学修飾によって決まり、例えばヘテロクロマチンの場合、その H3K9me 修飾によって特徴づけられることが知られています。真核細胞は H3K9me 修飾酵素 (writer) とその修飾を除去する酵素 (eraser) の両方を持っており、ヒストンの修飾を介して、このようなクロマチン状態の制御を行なっていると考えられています。

このうちのヘテロクロマチンを代表する最も有名な例が、セントロメア近傍領域におけるヘテロクロマチンです。セントロメアは多くの真核生物で共通してみられる染色体構造で、細胞が分裂する際、倍加した染色体を娘細胞に分配するために紡錘糸が結合する DNA 領域のことをいいます [図 1]。多くの場合、このセントロメア近傍にはヘテロクロマチンが形成されていることが知られており、染色体分配において足場的な役割を果たしていると考えられています。興味深いことに、このセントロメア近傍におけるヘテロクロマチン形成は多くの真核生物で共通してみられる特徴であるにも関わらず、そのヘテロクロマチン領域の DNA 配列は生物種間で全く保存されておらず、それぞれの種特異的な“繰り返し配列”で構成されていることが知られています。このように、セントロメア近傍領域におけるヘテロクロマチンは“なぜ繰り返し DNA 配列では選択的にヘテロクロマチンが形成されているのか”という問いの代表的な例となっています。

【研究手法と研究成果】

そこで本研究グループはモデル生物である分裂酵母を用いて、その染色体のセントロメア近傍領域がなぜ選択的にヘテロクロマチン化されているのか、という解析から研究に着手しました。分裂酵母の場合、セントロメア近傍ヘテロクロマチン領域は単純な繰り返し配列ではなく、*dg/dh* と呼ばれる特定の塩基配列で構成されています。これまでの研究で、この *dg/dh* からは non-coding RNA (ncRNA)*¹ が転写されており、それが RNAi という経路の標的になることで、ヘテロクロマチン形成が誘導されているということが明らかになってきました (図 2)。RNAi 経路とは、二十数塩基の small RNA と、その small RNA を介してそれと相補的な配列を持つ標的 RNA を認識する Argonaute 蛋白質で構成されている仕組みのことをいいます。この経路は様々な形で広く真核生物で保存されていますが、共通しているのは標的になった RNA の発現が抑制されるという点です。このうち、分裂酵母の *dg/dh* ncRNA における RNAi 経路は、“RNAi を介したヘテロクロマチン形成の誘導”によって標的 RNA の発現を抑制する例として、最も研究が進められているものの 1 つです。これまでの研究の結果、Argonaute 蛋白質が small RNA を介して *dg/dh* ncRNA を認識する際に、H3K9me 修飾酵素をクロマチンに連れてくることで当該領域におけるヘテロクロマチン形成が促進されるということが分かっています (図 2)。

上述したように RNAi 経路は small RNA を介して標的 RNA を認識するという特徴があるため、もし *dg/dh* 以外の small RNA を細胞内で人工的に産生すれば、それと相補的な配列をもつ任意の RNA をその標的として認識させることができるはずです。しかしながら興味深いことに、RNAi 経路に通常の mRNA 遺伝子を人為的に認識させても、ヘテロクロマチン形成が殆ど起きないということがこれまでの研究で分かってきました。この結果は、*dg/dh* ncRNA は通常の mRNA にはない、RNAi を

介したヘテロクロマチン形成にとって重要な特性を持っているということの意味していましたが、その実体は未だ明らかになっていませんでした。

dg/dh ncRNA の特性を調べる研究がこれまであまり進んでこなかった理由の1つとして、*dg/dh* ncRNA の発現は通常ヘテロクロマチン形成により抑制されているため、その検出や解析自体が難しかったということが挙げられます。そこで今回、研究グループは H3K9me 修飾を除去する蛋白質である Epe1 という因子に着目しました。研究グループはまず、この Epe1 を細胞内で過剰発現すると、*dg/dh* ncRNA の発現量が 30 倍近く増加し、それと同時に RNAi 経路が高活性化状態になることを見いだしました。この時 *dg/dh* ncRNA の発現量が増加することを利用してその詳細な解析を行なった結果、本来サイレントなヘテロクロマチンが形成される *dg/dh* 配列に、実は沢山の転写開始点^{*2}が存在しており、そこから Epe1 依存的に ncRNA が転写されているということが明らかになりました (図 3)。

そもそもこの RNAi 経路を介したヘテロクロマチン形成機構というのは、“転写を抑制する”ヘテロクロマチンの形成にその領域の“転写が必要”という矛盾を抱えています。そこで研究グループはこのように転写開始点が沢山あることが、転写が抑制されているヘテロクロマチンにおいても RNAi 経路の認識に必要な標的 RNA を十分量供給することを可能にするのではないかと考えました。そこでこの仮説を検討するために、先の「RNAi 経路に通常の mRNA 遺伝子を人為的に認識させても、ヘテロクロマチン形成を効率よく誘導できない」という報告に着目しました。もしも仮説が正しければ、通常の mRNA 遺伝子でも、ゲノム上の一カ所で繰り返しにした状態にすることで、*dg/dh* 配列同様、ヘテロクロマチン存在下で十分量の標的 RNA を供給することが出来、その結果効率よくヘテロクロマチン形成を誘導できるようになるのではないかと考えました。

そこで研究グループはある特定の mRNA 遺伝子が最大 8 回繰り返し替えした状態で染色体の一カ所に存在する細胞を作成し、その解析を行ないました (図 4)。その結果まず、mRNA 遺伝子を繰り返しただけでは自発的なヘテロクロマチン形成は起きないことが確認されました。しかし次に、人工的な small RNA によって RNAi 経路を介したヘテロクロマチン形成を誘導してみたところ、繰り返しになった標的遺伝子を持つ細胞では繰り返しになっていない標的遺伝子をもつ細胞と比べて 50 倍近い効率でヘテロクロマチンが形成されることが明らかになりました。解析の結果、繰り返しになった標的遺伝子上では RNAi 経路が small RNA を効率的に“再生産”することが出来、その結果ヘテロクロマチン形成が促進されていることが分かりました。注目すべきことに、一度“再生産”が始まると、最初誘導に用いた small RNA が細胞から取除かれた後も、RNAi 経路は自律的に活性化し続け、その領域のヘテロクロマチンを維持するようになることが分かりました。この結果は、これまで *dg/dh* 配列で解析されてきた RNAi を介したヘテロクロマチン形成が、通常の mRNA 遺伝子を繰り返しに配置することによっても人為的に再現できることを示しており、研究グループはこれを repeat-induced RNAi と名付けました。

この repeat-induced RNAi の系を用いて、最後に研究グループは Epe1 と RNAi の関係を調べました。その結果、Epe1 はヘテロクロマチン下にある標的遺伝子を脱抑制することで、RNAi 経路に必要な標的 RNA を供給する役割を担っており、この時 RNAi 経路が活性化されるかどうかは、標的遺伝子の繰り返しの数に依存しているということが明らかになりました (図 5)。標的遺伝子が一定数以上繰り返しになっている場合、Epe1 によって十分量の標的 RNA が供給されるため、RNAi 経路は small RNA を再生産して自律的に活性化することが出来、その結果ヘテロクロマチンは維持されます。一方で繰り返しの数が不十分な場合、Epe1 によって供給される標的 RNA が少ないため、RNAi 経路は活性化されず、その結果 Epe1 による脱抑制はヘテロクロマチンの除去という逆の結果を招くのです。

つまり Epe1 は、繰り返しの状態に応じて「ヘテロクロマチン形成の促進」と「ヘテロクロマチンの除去」という相反する2つの役割を果たしていたのです。また同時にこのことは、RNAi を介したヘテロクロマチン形成は H3K9me 修飾の補充と除去のバランスの上に成り立っていることを意味していました。

これまで繰り返し DNA 配列におけるヘテロクロマチン形成については、繰り返しになっていること自体が DNA-DNA 相互作用、異常な転写産物、遺伝子量の閾値の超過といった異常の原因になり、それが細胞に認識されることでヘテロクロマチン形成が起きると考えられてきました。今回示した repeat-induced RNAi は繰り返しになった mRNA 遺伝子に基づいていますが、*dg/dh* ncRNA のような変化形が存在することを考えると、転写さえ起きるのであれば、もっと単純な繰り返し DNA 配列においても同様の仕組みが機能しうると予想されます。「ヘテロクロマチンを除去する因子が繰り返し配列と組み合わせると逆にヘテロクロマチン形成を促進する」という今回の結果は、なぜ真核細胞ではヘテロクロマチンが繰り返し DNA 配列において選択的に形成されているのか、というこれまでの問いに新たな洞察を与えるものです。

【今後への期待】

繰り返し DNA 配列と関連したヘテロクロマチン形成は多様な生命現象において見られることが知られており、これには植物や動物におけるパラミューテーションやインプリンティングといった現象も含まれます。また実際ヒトにおいても、ある繰り返し配列の繰り返し数が減少することでその領域のヘテロクロマチンが失われ、その結果脱抑制した遺伝子によって発症する病気があることなどが報告されています。今後同様のメカニズムが高等真核生物においても存在しているのか明らかになっていくことで、こういった幅広い生命現象の理解や、関連するヒトにおける病気の治療法の探索に貢献することが期待されます。

論文情報

論文名 Tandemly repeated genes promote RNAi-mediated heterochromatin formation via an antisilencing factor, Epe1, in fission yeast (分裂酵母では直列に繰り返された遺伝子がアンチサイレンシング因子 Epe1 を介して RNAi 経路によるヘテロクロマチン形成を促進する)

著者名 浅沼高寛¹、稲垣宗一²、角谷徹仁²、油谷浩幸³、村上洋太¹ (¹北海道大学大学院理学研究院、²東京大学大学院理学研究科、³東京大学先端科学技術研究センター)

雑誌名 Genes & Development (分子生物学の専門誌)

DOI 10.1101/gad.350129.122

公表日 2022年12月20日(火)(オンライン公開)

お問い合わせ先

北海道大学大学院理学研究院 教授 村上洋太 (むらかみようた)

TEL 011-706-3813 FAX 011-706-3813 メール yota@sci.hokudai.ac.jp

URL <http://wwwchem.sci.hokudai.ac.jp/~bo/>

北海道大学大学院理学研究院 学術研究員 浅沼高寛 (あさぬまたかひろ)

TEL 011-706-3815 メール ippakuhutuka@sci.hokudai.ac.jp

配信元

北海道大学社会共創部広報課 (〒060-0808 札幌市北区北8条西5丁目)

TEL 011-706-2610 FAX 011-706-2092 メール jp-press@general.hokudai.ac.jp

東京大学大学院理学系研究科・理学部 広報室 (〒113-0033 東京都文京区本郷7-3-1)

TEL 03-5841-8856 メール kouhou.s@gs.mail.u-tokyo.ac.jp

【参考図】

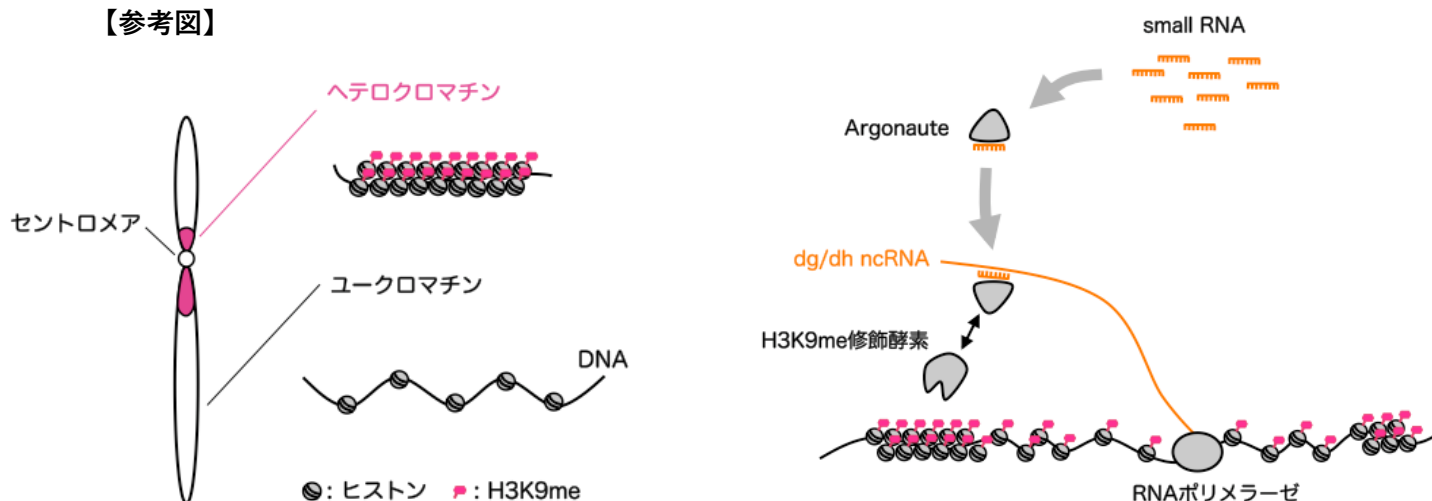


図1. 真核生物の染色体の模式図

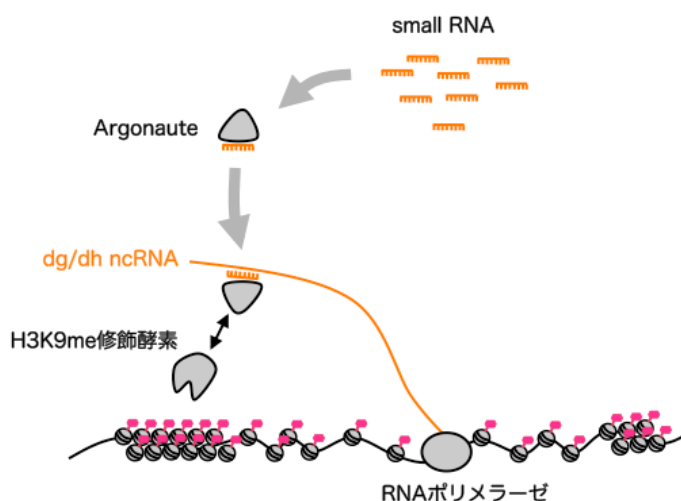


図2. RNAiを介したヘテロクロマチン形成機構

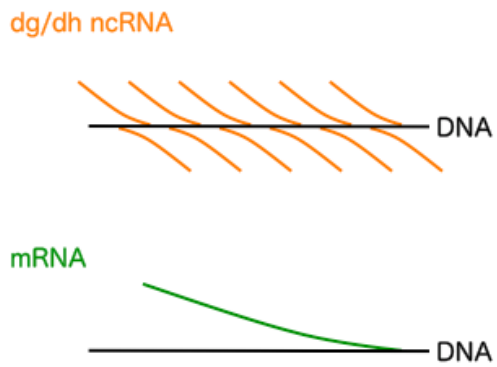


図 3. *dg/dh* ncRNA と mRNA の転写パターンの違いの模式図

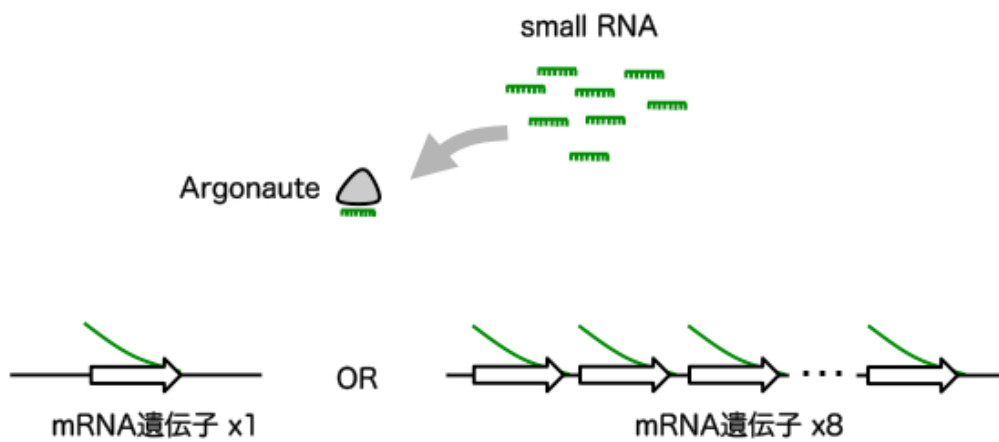


図 4. 繰り返しにした mRNA 遺伝子に人為的な RNAi を誘導する系の模式図

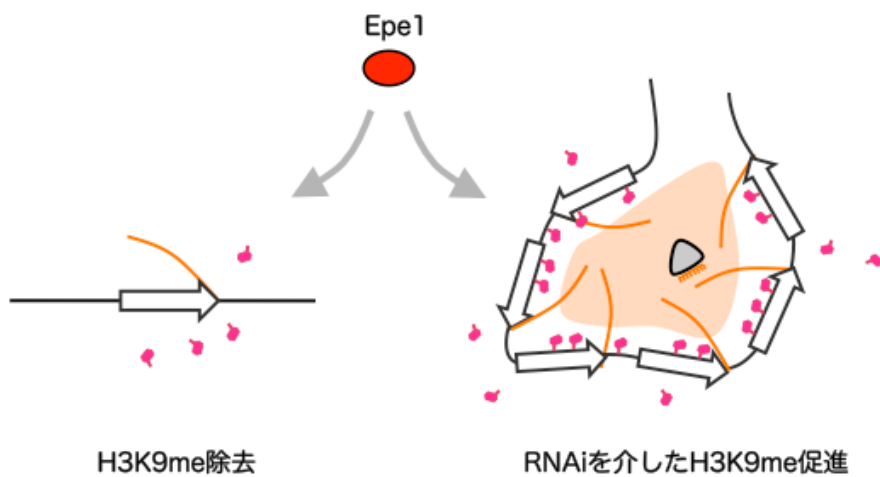


図 5. H3K9me 除去因子である Epe1 は相反する 2 つの役割を持つ

【用語解説】

*1 non-coding RNA … 蛋白質をコードしない RNA の総称。蛋白質をコードする mRNA とは対の存在で、RNA 自体が機能性分子として意味を持つと考えられている。多くの場合、その機能は ncRNA の配列や立体構造に由来すると考えられてきたが、今回の結果はその機能が“転写パターン”に由来する場合があることを示している。

*2 転写開始点 … DNA 配列上で、RNA ポリメラーゼによる RNA の転写が始まる場所のこと。RNA ポリメラーゼ II によって転写される mRNA の場合、25-32bp 上流の TATA box と呼ばれる配列や、-1/+1bp におけるピリミジン塩基/プリン塩基などによって特徴づけられる場合が多い。*dg/dh* 配列にはこれらの特徴を持つ転写開始点が遍在していた。