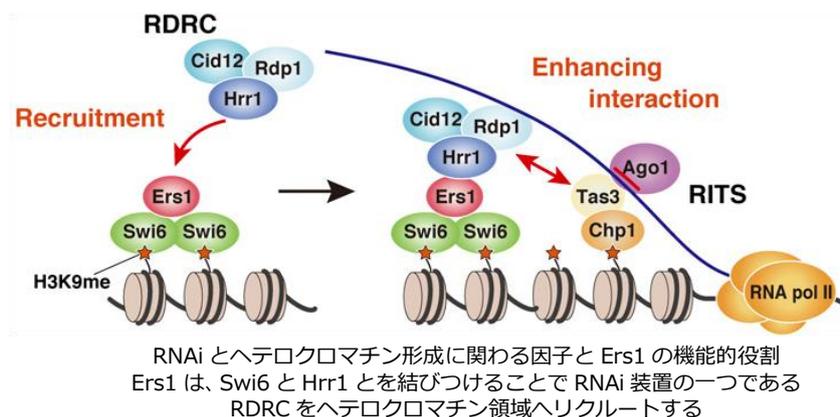


## RNAi とヘテロクロマチン凝集のインターフェース

2012年4月10日

染色体が高度に凝集されたヘテロクロマチン領域では構造的に遺伝子の転写や組み換えが抑制（サイレンシング）されている、というのがこれまでのセオリーだ。しかし近年、酵母において、このヘテロクロマチン領域でも実は転写が起っていることが明らかになった。転写で生じた non-coding RNA が、RNA 干渉（RNAi）の機構を介してヘテロクロマチンの凝集に機能しているというのだ。RNAi とヘテロクロマチン凝集、交わるはずがないと思われていた両者のメカニズムは、一体どのようにコンタクトしているのか。

理研 CDB の林亜紀研究員（クロマチン動態研究チーム、中山潤一チームリーダー）らは分裂酵母を用いた研究から、Ers1 が Swi6 との結合を介して、ヘテロクロマチン領域への RNAi 装置のリクルートに寄与していることを初めて明らかにした。本成果は米科学誌 *Proceedings of the National Academy of Science USA* 電子版に4月2日付で公開された。



ヘテロクロマチンの凝集はメチル化によって制御されている。酵母では、メチル基転移酵素 Clr4 が染色体の特定領域にメチル基を付加し、そこに Swi6（哺乳類では HP1）をはじめとするクロモドメインタンパク質が結合することで、ヘテロクロマチン凝集が誘導される。一方、RNAi は転写後の RNA を分解・翻訳抑制する仕組みで、エピジェネティックな遺伝子発現の調節機構として生体内で様々な役割を担っている。酵母では、哺乳類の RISC に当たる RITS（RNA-induced transcriptional silencing）複合体、Hrr1 等から構成される RDRC（RNA-dependent RNA polymerase complex）等が RNAi に機能する因子として同定されてきた。非常に興味深いことに、酵母を用いた最近の研究から、一部の RNAi 関連因子を破壊するとセントロメア領域のヘテロクロマチン凝集に異常をきたし、サイレンシングが不完全になることが明らかになった。実際、RITS や RDRC はセントロメアヘテロクロマチン領域に局在しており、RNAi 機構がヘテロクロマチンの凝集に関与している可能性が示されている。

林研究員らは RNAi を介したヘテロクロマチン凝集機構に関連する新規因子を同定するため、セントロメアのサイレンシングに異常をきたす酵母変異株のゲノムスクリーニングを行った。すると、いくつかの

RNAi 関連因子に交じって Ers1 という因子が同定された。Ers1 はこれまで RNAi に関与する可能性が指摘されながらも、その具体的な機能は明らかにされていなかった。そこで、彼らはこの因子に注目して解析を進めることにした。

見つかった変異株は Ers1 の一部が点変異を起こしており、セントロメア領域における不完全なサイレンシング、siRNA 生成量の低下、メチル化の減少等の異常を示していた。この変異株にヘテロクロマチン凝集または RNAi に関連する様々な遺伝子を導入したところ、Hrr1 と Clr4 をそれぞれ過剰発現させた時にこれらの異常を一部相補できることを見出した。このことから、Ers1 は Hrr1, Clr4 と機能的にリンクしていると考えられた。そこで各因子間の物理的な相互作用を調べると、Ers1 と Hrr1 は結合していることが分かった。一方、Ers1 と Clr4、Hrr1 と Clr4 に物理的な相互作用は認められなかった。

Clr4 と Ers1 が結合していないとすれば、機能的なリンクの裏には一体どのようなメカニズムが隠されているのだろうか。彼らは、Ers1 の細胞内局在を探った。EGFP でラベルした Ers1 を野生型株に導入すると、核内にて点状の凝集したシグナルが複数検出され、ヘテロクロマチン領域に局在することが示された。一方、Clr4 または Swi6 を破壊した株に導入したところ、上記のような点状の局在は認められずシグナルが拡散していた。Clr4 や Swi6 は、Ers1 のヘテロクロマチン局在に必須なのだ。さらに、Yeast-two-hybrid 法により Ers1 は Swi6 と直接結合することが明らかになった。これらのことから、Ers1 は Swi6 との結合を介して、Clr4 によりメチル化が亢進したヘテロクロマチン領域に局在することが明らかになった。

以上の結果から、Ers1 は一方で Hrr1 と、もう一方で Swi6 と結合することが示された。Hrr1 は RDRC の構成要素だ。そこでクロマチン免疫沈降アッセイを行うと、Ers1 および Swi6 不在下では Hrr1 を含む RDRC がセントロメアヘテロクロマチンに局在できなくなることが確認された。RDRC は、メチル化を識別する Swi6 と両者をつなぐ Ers1 という 2 つの因子の介在を経て、ヘテロクロマチン領域に局在できるのだ。

今回の研究により、Ers1 が Swi6 との結合を介して、RDRC をセントロメア近傍の高メチル化領域にリクルートすることが明らかになった。「最近の研究から、RDRC は RITS とダイレクトに相互作用することが明らかになっています。このことから、Ers1 は RNAi に関与する装置一式をヘテロクロマチン領域へと結び付ける、重要な橋渡し役として機能していると考えられます。」と中山チームリーダーは言う。「このような機構、すなわちクロマチンの構造変化と RNAi がリンクしている例は酵母以外の生物種においても保存されているのか、非常に興味深いですね。」