

# クロマチンの動的構造変換による遺伝子発現の制御

—クロマチンの動的構造変換による遺伝子発現の制御—



中山 潤一

理化学研究所発生・再生科学総合研究センター チームリーダー

## 1. 私が知りたかったこと

細胞が個体を作るための多様性を生み出すためには、決まった時期に適切な遺伝子をオン、あるいはオフにしてその状態を維持させることが重要になる。この際、DNAの一次配列の変化では説明できない、エピジェネティクスと呼ばれる現象が重要な働きをしていると考えられている。本研究では、クロマチンを構成するヒストンのメチル化修飾、およびそれを認識する蛋白質の結合状態を詳細に解析することで、高次クロマチン構造の変化によるエピジェネティックな遺伝子発現機構の解明を目指した。

## 2. 研究の狙い

エピジェネティックな現象を説明する機構として、DNA自身のメチル化やクロマチンの構造変化などが挙げられているが、その詳細な分子メカニズムには不明な点が多く残されている。本研究では、高次クロマチン構造という点で高等動物細胞と多くの共通点を有する分裂酵母をモデル材料として利用することで、クロマチン構造に基づくエピジェネティックな現象が、どのように我々ヒト細胞における遺伝情報の伝達に関わっているのか、分子レベルで解明することを目的としている。特に、1) DNA複製に際して高次クロマチン構造がどのように伝えられるのか、ヘテロクロマチン蛋白質の結合状態、ヒストンの修飾変化に注目して解析を行う、2) クロマチン構造が動的な変化を受ける場合に、どのような因子が必須であり、またどのような過程を経て変化するのか調べる、3) 高等真核生物での細胞の分裂寿命とクロマチンの構造変化との関係について、分裂酵母から得られた分子情報をもとに解析を試みる。以上の研究は、エピジェネティックという現象がどのように生物一般の遺伝情報伝達に関わっているか、解明する基礎になると考えられる。

### 3. 結果

分裂酵母はヒトなど高等な真核細胞とよく似たクロマチン構造を有しており、クロマチン構造に基づくエピジェネティックな現象を解析する上で、重要なモデル生物となっている。これまでに私達は、ヒトの HP1 (Heterochromatin Protein 1) の相同蛋白質である分裂酵母の Swi6 が、ヘテロクロマチンの重要な構成因子であり、エピジェネティックな遺伝子発現制御に重要な働きをしていること<sup>1)</sup>、さらに、ヘテロクロマチン構造の維持には、ヒストン H3-Lys9 のメチル化酵素 Clr4 が必要であり、Swi6/HP1 がそのクロモドメインを介してこのメチル化されたヒストン H3 に結合して局在することを明らかにした<sup>2)</sup>。クロモドメインは、メチル化されたヒストンに結合する、進化的に保存されたモジュールと考えられるが、分裂酵母に存在する Swi6 以外のクロモドメイン蛋白質が、ヘテロクロマチン構造形成にどのように関わっているのかは不明である。そこで、遺伝学的な解析からヘテロクロマチンとの関連が示唆されていたクロモドメイン蛋白質 Chp1 と Chp2 について、Swi6 との関連を含めてヘテロクロマチン構造形成に関わる機能を調べた。まず Chp1 と Chp2 の局在を解析したところ、Swi6 と同様にセントロメア、テロメア、接合型遺伝子座 (*mat* 座) に共通して局在し、その局在はメチル化酵素 Clr4 に依存していることが分かった (図1)。

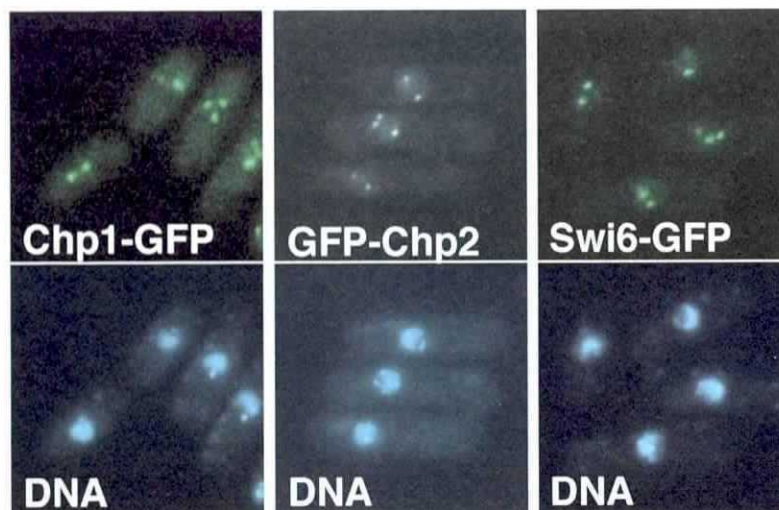


図1. 分裂酵母のクロモドメイン蛋白質の構造とその局在

次に、それぞれの遺伝子破壊が、お互いの局在にどのように影響するか解析した。その結果、Chp1 の欠損によって、セントロメアの Swi6, Chp2 の局在と H3-K9 メチル化が特異的に減少し、テロメアや *mat* 座には影響しないことが分かった。セントロメア特異的な表現型は、RNAi に関与する因子の遺伝子破壊でも確認されており<sup>3)</sup>、RNAi 因子は特にヘテロクロマチンの確立の過程に関与していることが示唆されていたので、ヘテロクロマチンの確立における Chp1 の働きを解析した。メチル化酵素である Clr4 の遺伝子破壊+再導入という実験によって、ヘテロクロマチンのマークである H3-K9 の回復を見る実験を行ったところ、Chp1 欠損株ではどの染色体領域でも、この回復が起こらないことが分かった (図2)。

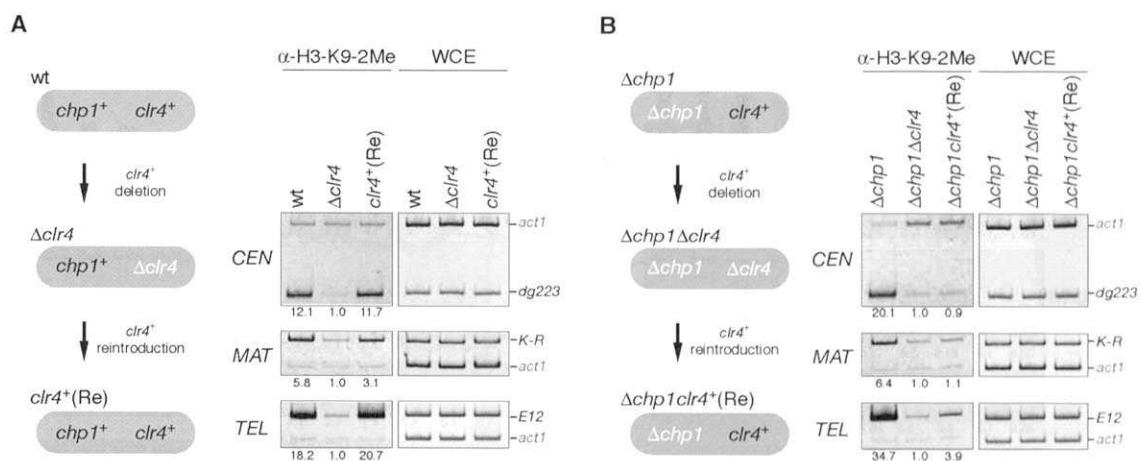


図2. 分裂酵母のChp1はヘテロクロマチン領域に存在するH3-K9メチル化の確立に必要である

この結果は、Chp1 がヘテロクロマチンの確立の過程に関与しており、セントロメア以外の領域でも重要な働きをしている事を示している。実際 Chp1 は RNAi 因子である Ago1 と複合体を形成していることが他のグループより報告されており<sup>4)</sup>、Chp1 は RNAi 因子と共に確立の過程に関与していることが考えられた。

Chp1、あるいは RNAi 因子の欠損株では、確立の過程が不全になっていると考えられるが、H3-K9 のメチル化はヘテロクロマチン領域で維持されており (図3 B)、H3-K9 のメチル化を維持する機構の存在が推測された。そこでのこの維持の機構における Swi6/Chp2 の役割を調べるため、それぞれの二重破壊株、三重破壊株 ( $\Delta chp1$ ,  $\Delta chp1 \Delta swi6$ ,  $\Delta chp1 \Delta chp2$ ,  $\Delta chp1 \Delta swi6 \Delta chp2$ ) を作成し、ヒストンの H3-K9 のメチル化の状態をクロマチン免疫沈降法で解析した (図3 C)。その結果、 $\Delta chp1$  で残存していたセントロメアでの H3-K9 のメチル化が、 $\Delta swi6$  と掛け合わせることで消失することが明らかになった。また、これまで明らかな表現

型が見られていなかった  $\Delta chp2$  と掛け合わせた場合でも顕著なメチル化の減少が確認された。さらに興味深いことに、 $\Delta chp1$ 、 $\Delta chp1 \Delta swi6$ 、 $\Delta chp1 \Delta chp2$  では影響が見られなかった接合型遺伝子 (*mat*) 座とテロメアでも、三重破壊株  $\Delta chp1 \Delta swi6 \Delta chp2$  にすると顕著に H3-K9 のメチル化が減少することが分かった (図 3 C)。

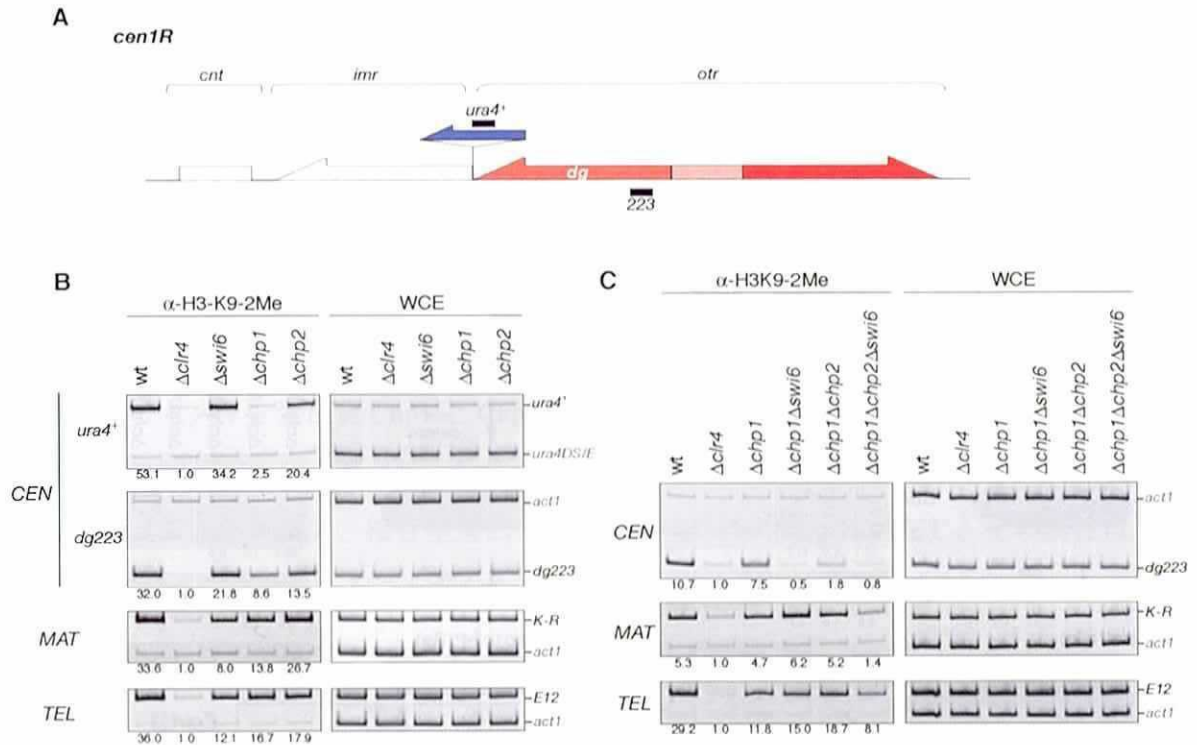


図3. 分裂酵母のSwi6とChp2はヘテロクロマチン領域のH3-K9メチル化の維持に必要である

以上の結果は、Swi6とChp2が、確立の過程を欠損した $\Delta chp1$ の株において、H3-K9メチル化の維持に重要な働きをしていること、さらにその働きは*mat*座とテロメアにおいて協調的に寄与している事を示す結果と考えられた<sup>5)</sup>。



#### 4. 考 察

今回の私達の研究によって、異なるクロモドメイン蛋白質が、それぞれヘテロクロマチンのマークである H3-K9 メチル化の確立と維持の過程に重要な働きをしていることが明らかとなった (図 4)。また、異なる染色体領域のヘテロクロマチン構造形成には、共通の構造因子が関与しており、Chp1 や RNAi 因子の表現型の違いは、それぞれの染色体領域で確立と維持の必要性のバランスが異なっているという、新しい分子機構で説明できると考えられる。このように、分裂酵母の研究によって明らかになった、確立と維持の過程によってダイナミックにクロマチンの構造変換が起きているという事実は、高等真核生物のクロマチン構造に基づく複雑な現象を理解する助けになると期待される。

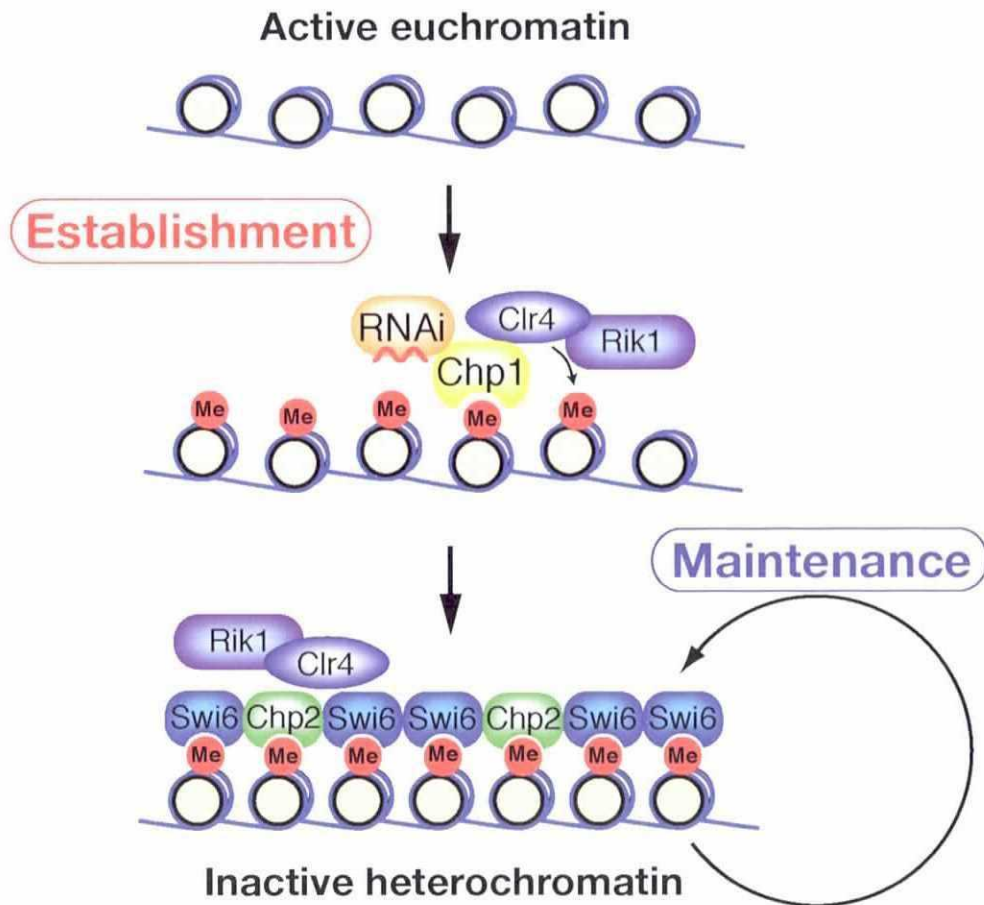


図4. 分裂酵母におけるヘテロクロマチン構造形成のモデル

## 参考文献

- 1) Nakayama J, Klar AJ and Grewal SI. (2000) A chromodomain protein, Swi6, performs imprinting functions in fission yeast during mitosis and meiosis. *Cell* **101**: 307-317
- 2) Nakayama J, Rice JC, Strahl BD, Allis CD and Grewal SI. (2001) Role of histone H3 lysine 9 methylation in epigenetic control of heterochromatin assembly. *Science* **292**: 110-113
- 3) Volpe TA, Kidner C, Hall IM, Teng G, Grewal SI and Martienssen RA. (2002) Regulation of heterochromatic silencing and histone H3 lysine-9 methylation by RNAi. *Science* **297**: 1833-1837
- 4) Verdel A, Jia S, Gerber S, Sugiyama T, Gygi S, Grewal SI and Moazed D. (2004) RNAi-mediated targeting of heterochromatin by the RITS complex. *Science* **303**: 672-676
- 5) Sadaie M, Iida T, Urano T and Nakayama J. (2004) A chromodomain protein, Chp1, is required for the establishment of heterochromatin in fission yeast. *EMBO J.* **303**: 3825-3835