

Non-coding RNA とエピジェネティックな修飾の協調的遺伝子発現制御

佐渡 敬

国立遺伝学研究所



1. 私が知りたかったこと

X 染色体不活性化の鍵を握る *Xist* とそのアンチセンス遺伝子 *Tsix* をモデルとして、non-coding RNA が DNA やヒストンの修飾と協調的に作り上げる遺伝子発現制御機構やクロマチン構造制御機構の理解を目指した。

2. 結果

Tsix による *Xist* 遺伝子座のクロマチン制御

胎盤などのいわゆる胚体外組織においては、父性 X 染色体が選択的に不活性化し、母性 X は決して不活性化しない（インプリント型 X 染色体不活性化）。ところが、母親に由来する *Tsix* 欠損を持つマウス胚は、胚体外組織において本来発現することのない母性 *Xist* アリルの異所的な発現を招き、その結果雄では唯一の X 染色体がメスでは双方の X 染色体が不活性化するため着床後間もなく死亡する。こうした *Tsix* 欠損マウスの解析から、*Tsix* が *Xist* の発現を負に制御する因子であることが明らかとなったが、その分子基盤は依然不明であった。

本研究では、*Tsix* 欠損が *Xist* 遺伝子座のクロマチンにおよぼす影響を調べるために、*Tsix* 欠損 X 染色体上で *Xist* も IRES-EGFP のノックインにより破壊した *Tsix/Xist* 二重欠損 X 染色体 (X^{dc}) (図 1) をもつマウスを作製した。母由来の X^{dc} をもつマウスの胚体外組織では、*Tsix* 欠

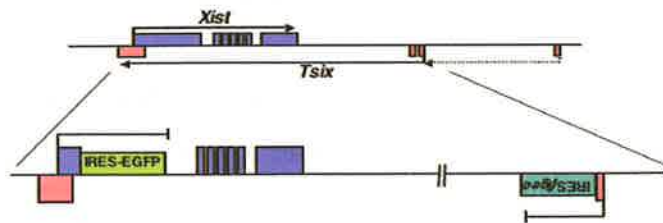


図 1 *Tsix/Xist* 二重欠損 X 染色体の作製

損により母由来 *Xist* の発現が引き起こされるもののその転写産物は IRES-EGFP の挿入によりもはや機能的なものではないため、*Tsix* のみを破壊した X^{4Tsix} の場合と異なり母性 X^{dc} の不活性化は起こらず胚は正常に発生した。これにより、着床後まもなく致死となる母性 X^{4Tsix} を持つ胚では解析が不可能であった *Xist* 遺伝子座クロマチンの解析が可能となった。雌雄の胚において X^{dc} 上の *Xist* プロモーター領域の DNA メチル化、クロマチン構造、ヒストン修飾を解析することで、*Xist* 遺伝子座のエピジェネティックな修飾の構築における *Tsix* の役割を検討した。その結果、*Tsix* の機能を阻害すると、*Xist* プロモーター領域に抑制型のクロマチン構造が構築されなくなることが明らかとなった。

3. 考 察

今回の解析により、*Tsix* は *Xist* 遺伝子座のクロマチン構築に深く関与することで *Xist* の発現を制御していることが強く示唆された。このことから、*Tsix* RNA もしくはその転写が *Xist* プロモーター領域を逆方向に走ることで *Xist* プロモーター領域に転写活性化に関わる因子が会合することを阻害しその結果 *Xist* の発現が抑制されるというモデルが考えられる。あるいは逆に *Xist* プロモーター領域に転写抑制に関わる因子をリクルートすることに *Tsix* RNA やアンチセンス転写が働いているというモデルも考えられる。また、これらのモデルは互いに排他的なものではなく一連のイベントが連続的に起こっているとも考えられる。さきがけ研究で行った別の解析から、DNA メチル化自体は *Xist* の片アリル性発現を誘導する主要な機構ではないことが示唆されているので、現時点では *Tsix* は DNA メチル化というよりはヒストン修飾の制御に関与することで、*Xist* の発現を制御しているのではないかと考えているが、今後さらなる解析が必要である。

文 献

Ohhata, T., Hoki, Y., Sasaki, H., and Sado, T. *Tsix*-deficient X chromosome does not undergo inactivation in the embryonic lineage in males: implications for *Tsix*-independent silencing of *Xist*. *Cytogenet. Genome Res.* (in press).

Sado, T., Hoki, Y., and Sasaki, H. (2005). *Tsix* silences *Xist* through modification of chromatin structure. *Dev. Cell*, 9, 159-165.

Sado, T., Okano, M., Li, E., and Sasaki, H. (2004) *De novo* DNA methylation is dispensable for the initiation and propagation of X chromosome inactivation. *Development* 131, 975-982.