



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	反復配列がヘテロクロマチン形成を促進するメカニズムの研究 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	浅沼, 高寛
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(理学)
Dissertation Number	乙第7191号
Issue Date	2023-12-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/91204
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	ASANUMA_Takahiro_abstract.pdf, 論文内容の要旨



学 位 論 文 内 容 の 要 旨

博士の専攻分野の名称 博士（理学） 氏名 浅沼 高寛

学 位 論 文 題 名

反復配列がヘテロクロマチン形成を促進するメカニズムの研究

真核生物のゲノム DNA は、ヒストン蛋白質に巻きついてヌクレオソームと呼ばれる構造を形成し、それが連なったクロマチンと呼ばれる高次構造をとって核内に収められている。クロマチンは、その性質に基づいて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。ユークロマチン領域では遺伝子の発現が活発に行われる一方、ヘテロクロマチン領域では遺伝子の発現が強制的に抑制される。この 2 つの対照的な状態は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、そのヒストン H3 の 9 番目のリジンのメチル化修飾 (H3K9me 修飾) によって特徴づけられることが知られている。真核生物は、H3K9me 修飾酵素とその修飾を除去する酵素の両方を持っており、ヒストンの修飾を介してクロマチン状態の制御を行なっていると考えられている。

興味深いことに、ヘテロクロマチンは DNA が反復配列となっている領域で形成される傾向があることが知られている。その代表的な例は、セントロメア近傍領域に存在するヘテロクロマチンである。セントロメア近傍領域のヘテロクロマチンは染色体分配において重要な役割を果たしていると考えられており、多くの真核生物の染色体で共通してみられる特徴である。しかし、その領域の DNA 配列は生物種間で保存されておらず、それぞれの種特異的な反復配列で構成されている。この事実は、真核生物には DNA が反復配列になっていること自体を認識して、その領域のヘテロクロマチン形成を促進する機構が存在すること示唆している。しかし、その仕組みは未だ明らかになっていない。

モデル生物である分裂酵母において、セントロメア近傍領域は高等真核生物で見られるような反復配列ではなく、*dg/dh* と呼ばれる特定の塩基配列で構成されている。過去の研究から、*dg/dh* 配列からは non-coding RNA (ncRNA) が転写され、これが RNA 干渉 (RNA interference, RNAi) 経路の標的となることで、ヘテロクロマチン形成が誘導されることが明らかになっている。RNAi 経路は、二十数塩基の small interfering RNA (siRNA) と、siRNA を介してと結合しそれと相補的な標的 RNA を認識する Argonaute 蛋白質を中心に構成されている。これまでの研究から、Argonaute 蛋白質が siRNA を介して核内で転写されている ncRNA を認識・結合する際に、H3K9me 修飾酵素をその領域にリクルートすることで、ヘテロクロマチン形成が促進されることが明らかになっている。しかし一方で、人工的な siRNA を用いることで、通常の mRNA 遺伝子をその標的として認識させても、ヘテロクロマチン形成は殆ど誘導されないことが明らかになっている。この結果は RNAi 経路を介したヘテロクロマチン形成には siRNA による認識以外の要因があることが示唆していたが、その実体はこれまで不明であった。

本研究ではまず、*dg/dh* 配列中には沢山の転写開始点が偏在していることを明らかにする。次にこの特徴こそが、*dg/dh* ncRNA を RNAi 経路を介したヘテロクロマチン形成の標的たらしめているという仮説を立て、通常の mRNA 遺伝子を用いてこの特徴を人為的に模倣することを試みる。その結果、タンデムリピートに配置した mRNA 遺伝子を用いることで、*dg/dh* 配列と同様、RNAi 経路を介したヘテロクロマチン形成が確立できることを示す。最後に、Repeat-induced RNAi と名付けたこの系を用いることで、H3K9me 除去因子 Epe1 が、リピートの数に応じて、「H3K9me 修飾の除去」と「RNAi 経路活性化による H3K9me 修飾の維持」という相反する二つの役割を果たしていることを明らかにする。この結果は、なぜ真核生物では反復配列においてヘテロクロマチン形成が促進されているのか、という問いに対する 1 つの解答を示すものである。