

4. 小分子 RNA とクロマチン動態

石田真由美, 中山潤一

クロマチンは、ヌクレオソームを単位とする DNA とタンパク質の複合体であり、真核細胞におけるエピジェネティックな遺伝子発現制御や、その発現パターンの維持に必須な構造である。このクロマチン構造の変換には、ヒストンの修飾やリモデリング因子の働きが知られるが、最近になってタンパク質をコードしない RNA が、この構造変換に深く関与することが明らかになってきた。本稿では特に、高次クロマチン構造として知られるヘテロクロマチンの形成と RNAi 機構との関わりを中心に、小分子 RNA とクロマチン動態について概説する。

1. クロマチン動態を制御する小分子 RNA 発見と研究会へのインパクト

1) ヘテロクロマチン

一般に良く知られた RNAi と呼ばれる現象は、細胞内に導入した二本鎖 RNA と相補的な mRNA の特異的な分解、あるいはその mRNA の翻訳が抑制される現象である。どちらの過程も主として細胞質分画で起こる現象であり、核内のクロマチン動態との関連については、RNAi 機構の発見当初、あまり注目されていなかった。実際に RNAi とクロマチン動態の密接なつながりは、分裂酵母を用いたヘテロクロマチンの研究から明らかにされてきた。分裂酵母は、ヒトなどの高等真核生物とよく似たクロマチンの構造的特徴を有し、特に、染色体の機能ドメインであるセントロメアやテロメアは、高等生物と同様に繰り返し配列から構成され、ヘテロクロマチンと呼ばれる凝縮クロマチン構造が存在している。このヘテロクロマチン構造の形成には、進化的に保存された SET ドメインタンパク質 SUV39H1 (分裂酵母では Clr4) によって触媒される、ヒストン H3 の9番目のリジンのメチル化 (H3-K9me) と、このメチル化を特異的に認識して結合するヘテロクロマチンタンパク質 HP1 (分裂酵母では Swi6) の働きが重要であることが明らかにされている¹⁾。

2) 分裂酵母のヘテロクロマチンと RNAi

興味深いことに、分裂酵母には他の生物種で同定された RNAi 機構の中心的因子である、Dicer, Argonaute, RNA 依存 RNA ポリメラーゼの相同因子をコードする遺伝子が、それぞれ1セットずつ存在し (*dcr1*⁺, *ago1*⁺, *rdp1*⁺)、これらの遺伝子を破壊すると、共通してセントロメアヘテロクロマチンの H3-K9me や Swi6 局在の低下が起こり、

セントロメア領域に由来する両方向の転写産物が蓄積することが発見された²⁾。これらの結果より、従来転写不活性な領域と考えられてきたヘテロクロマチン領域から、実際に転写が起きていること、さらにその RNA が RNAi の機構によってプロセスされる事が、高次クロマチン構造の形成に重要であることが示唆されたのである。現在までに、分裂酵母の RNAi に関わる因子とそのメカニズムが精力的に研究され、そのメカニズムが徐々に明らかにされてきている。まずヘテロクロマチンに存在する繰り返し配列は、RNA ポリメラーゼ II によって転写される。双方向の転写によって自発的に形成される長い二本鎖の RNA に加え、一方向の転写産物が Rdp1 を中心とした RDRC 複合体 (RNA-directed RNA polymerase complex) によって、二本鎖 RNA に変換されると考えられている。このように形成された二本鎖 RNA は、Dcr1 の働きによって短い二本鎖 siRNA に切断された後 Ago1 に取り込まれ、Arc (Argonaute siRNA chaperone) という中間複合体を経て一本鎖 siRNA へ変換される。一本鎖 siRNA を含む Ago1 は、Chp1, Tas3 とともに RITS (RNA-induced transcriptional silencing) 複合体を形成し、RNA-RNA 相互作用を介してヘテロクロマチン領域へリクルートされる。実際の分子メカニズムは不明だが、この RITS のターゲッ

* : *cis* の作用・*trans* の作用

あるクロマチン領域から転写された RNA が、その領域に直接の作用 (クロマチンの構造変化) を及ぼす場合を、本稿では「*cis* の作用」と呼ぶ。転写された RNA、あるいはプロセスされた RNA が、もとの転写領域とは離れたクロマチン領域に作用 (クロマチンの構造変化) を及ぼす場合を「*trans* の作用」と呼ぶ。外来の RNA が、ホストのクロマチン変化を引き起こす場合も「*trans* の作用」と考えられる。分裂酵母のヘテロクロマチン形成では、主として「*cis* の作用」が重要な役割を果たしており、逆に植物で見られる RNA 依存 DNA メチル化は、明らかに「*trans* の作用」によって起きている。

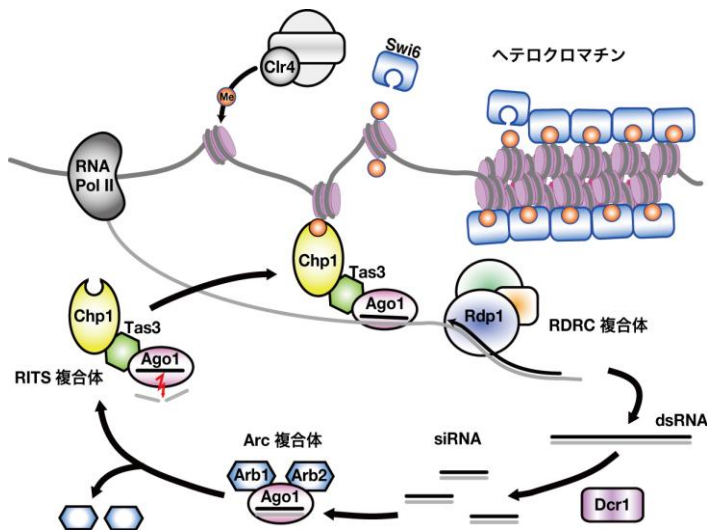


図1. 分裂酵母のヘテロクロマチン構造形成とRNAi機構

ヘテロクロマチン領域では、Clr4 によってヒストン H3-K9 がメチル化され、このメチル化を認識してSwi6が結合し高次のクロマチン構造を形成している。ヘテロクロマチン領域は RNA polII によって転写され、Rdp1 の働きで二本鎖 RNA にされた後、Dcr1 によって短い siRNA へ切断される。この siRNA は Ago1 に取り込まれ、最終的に RITS 複合体としてヘテロクロマチン領域へリクルートされる。この RNA の代謝機構が、Clr4 によるメチル化と Swi6 の結合を促進すると考えられている(本文参照)。

ディングがきっかけとなって、Clr4 による H3-K9 のメチル化や Swi6 の結合が起こり、凝縮ヘテロクロマチン構造が形成されていると考えられている(図1)。また、RNAi 機構によるヘテロクロマチン RNA の代謝プロセスとクロマチン構造の変換は相互依存的な関係にあり、正のフィードバックループによる機構が提唱されている³⁾。

2. さまざまな生物におけるクロマチン動態と RNAi 機構の研究課題

分裂酵母で明らかにされたクロマチン動態と RNAi の関係は、他の生物でも保存されているのであろうか。少なくともショウジョウバエや動物細胞において Dicer を欠損させると、セントロメアヘテロクロマチンの異常が観察されることから、RNAi 機構とクロマチン動態との関係は進化的に保存されていると考えられている。しかし、高等真核生物には、Rdp1 に相当する RNA 依存性 RNA ポリメラーゼや、RITS のようなエフェクター複合体の存在は確認されておらず、どの程度同じ分子機構が働いているのか、今後の解析が必要と考えられる。また、最近の分裂酵母の解析から、ヘテロクロマチン形成に関わる RNA の代謝機構は *cis* の作用によって制御されており、単純に RNA

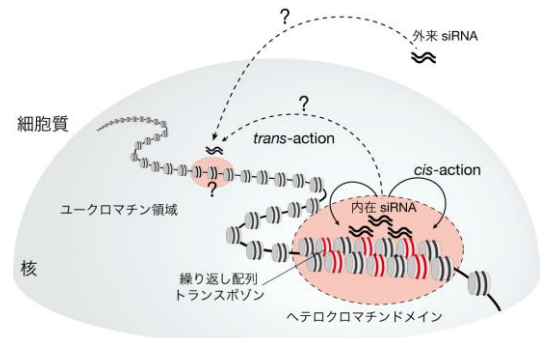


図2. 核内における siRNA の働きとクロマチン動態

ヘテロクロマチンにおける RNAi の機構は、*cis* の作用が中心であり、*trans* の作用によって離れたクロマチン領域の構造変換に関わるかどうか明らかにされていない。また、核外から導入された siRNA の働きによって、相補的な領域のクロマチン構造の変換が起こるかどうかについては、今後の研究の発展によって解明されるものと期待される。

の相補性を利用して離れたクロマチン領域に *trans* に作用する活性は低いことが示唆されている。これはヘテロクロマチンが *cis* に伝播 (spread) する性質と関連して考えると興味深いですが、もしこれが高等真核生物でも同様であれば、例えばゲノムのある領域に相補的な二本鎖 RNA を人為的に細胞内、あるいは核内に導入したとしても、相補的な領域のクロマチン動態の変化を導くような現象は起きにくいと考えられる(図2)。しかし植物では、二本鎖 RNA の導入によって、RNAi とよく似た機構を介して相補的なゲノム領域の DNA メチル化が誘起され、結果的にクロマチンの構造変換に結びつくことが明らかにされている⁴⁾。ヒトを含む高等真核細胞においても、クロマチンの構造変換と DNA メチル化は密接に結びついていることから、植物で見られるような小分子 RNA を介したクロマチン動態の変換が、遺伝子発現制御やゲノムの恒常性維持に関わる事は十分に考えられる。今後解明すべく残された重要な課題の一つと考えられる。

参考文献

- 1) Nakayama, J. et al.: Science, 292: 110-113, 2001
- 2) Volpe, T et al.: Science, 297: 1833-1837, 2002
- 3) Grewal, S. I. & Jia, S.: Nat Rev Genet., 8: 35-46, 2007
- 4) Matzke, M. A. & Birchler, J. A.: Nat Rev Genet., 6: 24-35, 2005