

## VII 細胞核と RNA メタボリズム

# RNAi とヘテロクロマチン

中山潤一

ヘテロクロマチンは、高度に凝縮したクロマチン構造として知られ、セントロメアやテロメアなど染色体の機能ドメインの構築や、エピジェネティックな遺伝子発現調節に重要な役割を果たしている。近年、この高次クロマチン構造の形成に、二本鎖 RNA の導入によって相補的な mRNA の分解や翻訳抑制が起こる現象として有名な、RNA 干渉 (RNAi) と呼ばれる機構が深く関わるようになってきた。本稿では、最も研究の進んだ分裂酵母での研究を中心に、RNAi と高次クロマチン構造の関係について紹介する。

**KEY WORDS:**ヘテロクロマチン RNA 干渉 ヒストン メチル化

### はじめに

これまでに、私達ヒトを含め様々な真核生物のゲノム DNA が解読されたが、最も大きな驚きの一つが、遺伝子をコードしている領域に比べて、単純な繰り返し配列や転位因子がゲノムの大部分を占めているという事実ではないかと考えられる。確かに、遺伝子領域の上流・下流、また内部のイントロンの領域にこのようなタンパク質をコードしない配列が挿入された場合、遺伝子の発現を調節し、酵母などの単純な生物には見られない複雑な発現制御を可能にしている場合もあろう。しかし多くの場合、遺伝子領域とは隔てられた領域に存在し、それ自身ゲノム中に散在する事を目的とする、利己的な存在のように見受けられる。ヘテロクロマチンと呼ばれる高度に凝縮したクロマチン構造は、このような領域からの転写を抑制し、組換えによる無秩序な増幅を抑えるために、細胞が保持する機構の一つではないかと考えられる。興味深いことに、このようなヘテロクロマチン構造は、セントロメアやテロメアなどの真核細胞の染色体ドメインに存在し、その構造自体が染色体機能に重要な働きをしている事が知られている。また高等真核生物の発生の過程で、遺伝子の発現抑制をする際にも、同様なクロマチン構造の関与が明らかにされている。細胞がどのような進化的過程を経て、抑制的なクロマチン構造を染色体の機能ドメインや、遺伝子発現制御に利用するようになったかは定かではないが、その本来の機能は、繰り返し配列や転位因子の増幅抑制に由来するのではないかと考えられる。

ところで、RNA 干渉 (RNAi) と呼ばれる現象は、二本鎖 RNA の導入によってその RNA と相補的な mRNA の分解、あるいは翻訳抑制が起こる現象である。関連する現象は古くから植物でも確認されていたが、線虫を用いた近年の詳細な解析によってその機構が明らかにされ、現在までにヒトを含めて様々な真核生物で保存された機構であることが解明されている。多くの外来因子が RNA をゲノムとして保持している事、また RNA を介して転移する転位因子が数多く存在する事実から、RNAi 機構は細胞が外来遺伝物質を認識し、それを排除する機構に由来すると考えられている。RNAi 機構に関わる因子は、主として細胞質において mRNA の分解や翻訳抑制を行っていると考えられている。ところが、ここ数年の研究から、この RNAi 機構と核内のヘテロクロマチン構造形成が密接に結びつくことが明らかになってきた。どちらも「ホストゲノムの防御」という方向性を持つ機構であるが、その作用機序も含めどのように両者の機構が結びつくのか、不明な点がまだまだ数多く残されている。本稿では、最も研究の進んだ分裂酵母での研究を中心に、他の高等真核生物での知見も併せて紹介し、両機構の関わりを議論したい。

## 1. ヘテロクロマチン構造形成の分子機構

### 1. ヘテロクロマチンとは

ヘテロクロマチンは、動物や植物の細胞を染色して顕

微鏡で観察した際に、他の核内領域に比べて非常に濃く染色される(=DNA含量に富む)領域として、反対に淡く染色されるユークロマチンとの対比から、約70年以上も前に定義された言葉である。ヘテロクロマチンは、細胞周期を通じて常に分裂期染色体のように凝集したままの状態を維持し、他の染色体領域に比べて後期に複製され、その領域間での組換え頻度は非常に低い、等の特徴を有する事が示されている。しかし、これらの特徴は典型的なヘテロクロマチンに認められるものであり、その定義の拡張と共に、必ずしもこのような特徴には当てはまらないヘテロクロマチン領域が存在することも知られている。ヘテロクロマチンは概して2種類に大別される。一つは構造的(constitutive)ヘテロクロマチンと呼ばれ、セントロメアやテロメアなど染色体の機能に必須な領域を構成すると共に、繰り返し配列や転移因子に富むという一次配列上の特徴を有している。他方、不活性化X染色体に代表されるような、本来ユークロマチンとしての特徴を持ち遺伝子に富む領域が、発生の段階で構造的クロマチンと同様な凝縮構造を取る場合を、選択的(facultative)ヘテロクロマチンと呼ぶことで区別されている。

## 2. 位置効果・サイレンシング

ヘテロクロマチンがどのような構造的な特徴を有しているか、その分子的な詳細については最近の研究まで明らかにされていなかったが、多くの遺伝学的な研究から、ヘテロクロマチンの有する凝縮クロマチン構造は近隣の遺伝子領域まで伝播し、その遺伝子の発現を抑制する事が知られていた。特にショウジョウバエの位置効果(PEV: position effect variegation)と呼ばれる現象では、目の色を決める*white*遺伝子が、染色体の構造変化によってセントロメアヘテロクロマチンの近傍に置かれた際に、その発現が細胞ごとによって変化し斑入りの目の色として観察される。この現象は、ヘテロクロマチンに特徴的な

凝縮クロマチン構造が、隣接する*white*遺伝子まで伝播したためと考えられ、その抑制効果は細胞ごとにオン・オフの情報として、あたかも細胞記憶のように維持されていることを示す興味深い結果と考えられている<sup>1)</sup>。同様な遺伝子発現抑制の現象は、酵母のヘテロクロマチン領域でも確認されている。セントロメアやテロメアの近傍では、挿入したマーカー遺伝子の発現が抑制されることから、典型的な遺伝子サイレンシングの現象としてその分子メカニズムが詳細に研究されてきた。いずれの現象においても、ヘテロクロマチンに特徴的な凝縮クロマチン構造が、遺伝子発現の発現抑制に重要な働きをしている事を示す結果と考えられている。

## 3. ヒストンの修飾とヘテロクロマチン

クロマチンの基本単位はヒストンとDNAからなるヌクレオソームであり、ヌクレオソームを構成する4種類のヒストン(H2A, H2B, H3, H4)は、アセチル化、メチル化、リン酸化、ユビキチン化等、様々な転写後の修飾を受けることが古くから知られている。特にアセチル化修飾は遺伝子の発現状態と良く相関し、抗体を用いた解析からヘテロクロマチン領域は、概して低アセチル化状態にあることが明らかにされている。また、ヒストンのメチル化修飾の役割については長い間不明なままであったが、上記のPEVを抑圧する(変異によってPEV現象が見られなくなる)因子として単離されたSu(var)3-9と、その相同タンパク質(ヒトSUV39H1; 分裂酵母Clr4)が、ヒストンH3の9番目のリジン残基を特異的にメチル化する酵素であることが明らかにされた。その後の研究から、このメチル化修飾がヘテロクロマチンに特徴的に存在すること、また、ヘテロクロマチンの構造タンパク質として知られていたHP1(分裂酵母Swi6)が、クロモドメインを介してこの修飾を認識して局在することが解明され、ヘテロクロマチンの凝縮クロマチン構造の分子機構が明らかにされた(図1)<sup>2)</sup>。興味深いことに、ヒストンのメチル化修飾は不活性な状態を規定するばかりでなく、特定の部位のメチル化修飾が様々なクロマチン構造変化を規定する重要なマークとなりうる事が明らかにされている。例えば遺伝子の活性化領域にはヒストンH3のK4、K36、K79のメチル化修飾が存在し、それぞれ転写開始や伸長、また不活性なクロマチン領域の伝播を抑制する働きをする事が明らかにされている。一方、転写が不活性なヘテロクロマチン領域では、ヒストンH3のK9、K27、またヒストンH4のK20のメチル化修飾が特徴的に存在している。代表的な選択的

### 略語

PEV	: position effect variegation
RdDM	: RNA-dependent DNA methylation
RDRG	: RNA-directed RNA polymerase complex
RISC	: RNA-induced silencing complex
RITS	: RNA-induced transcriptional silencing
RNAi	: RNA interference

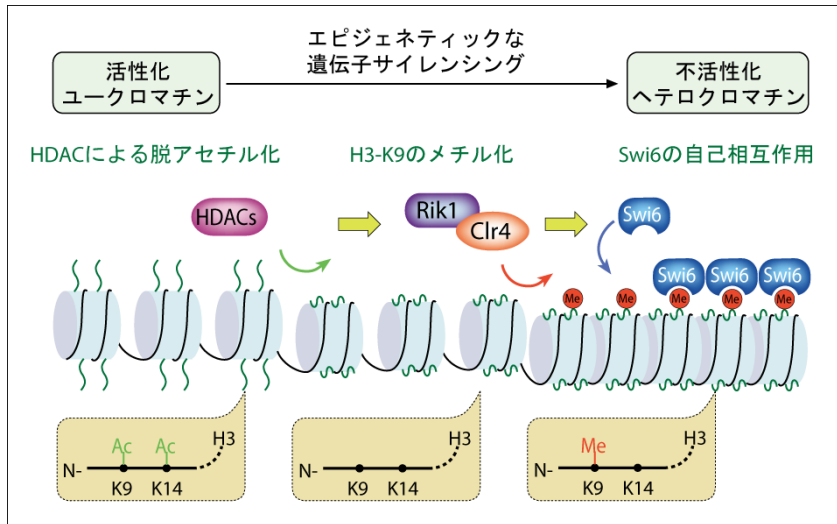


図1 ヘテロクロマチン構造形成への段階的モデル<sup>1)</sup>

分裂酵母での解析から、ヒト SUV39H の相同因子である Clr4 がヒストン H3-K9 のメチル化修飾を触媒し、ヒト HP1 の相同因子である Swi6 がこのメチル化修飾を認識して結合することが明らかにされた。Clr4 のメチル化に先だて、ヒストン脱アセチル化酵素(HDAC)の働きが必要であることから、活性化クロマチンから不活性化ヘテロクロマチンへの変換には、これらのヒストンの修飾の変化が協調的に行われていると考えられる。(文献1, 2より改変)

ヘテロクロマチンである哺乳類の不活性化 X 染色体では、H3-K27 のメチル化が重要な働きをしていることが明らかにされており、構成的ヘテロクロマチンと同様の機構で凝縮クロマチン構造が形成されていると考えられている。

## II. ヘテロクロマチン構造形成と RNAi 機構

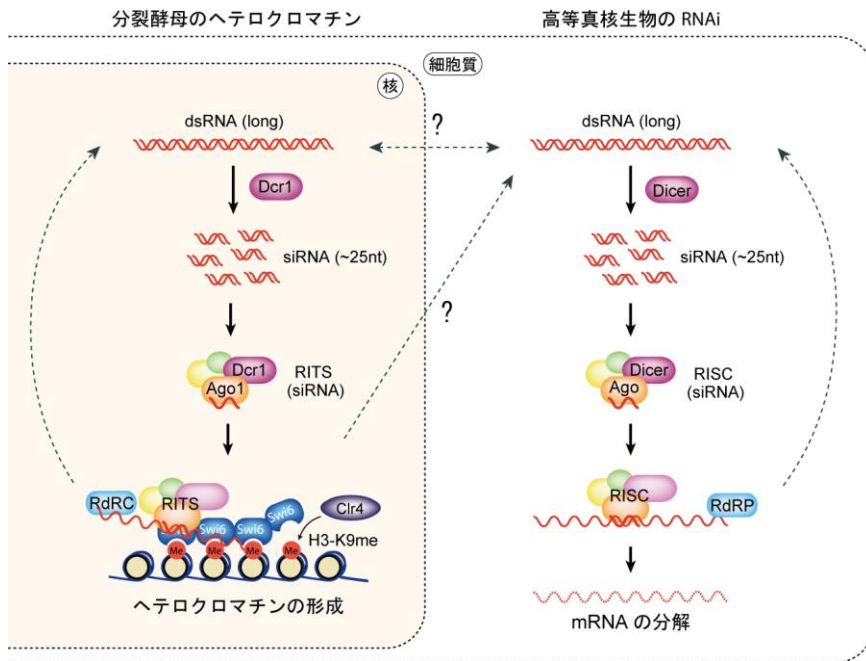
### 1. 分裂酵母のヘテロクロマチンと RNAi

上述のように、ヘテロクロマチンの分子的な特徴として、低アセチル化、H3-K9 のメチル化、またこのメチル化を認識して結合する HP1 タンパク質の局在が明らかにされたが、最近の研究からヘテロクロマチン構造の形成は、これらの特徴だけで規定される単純な構造ではないことが分かってきた。分裂酵母は、核内のクロマチン構造、特にヘテロクロマチンを研究する上で非常に優れたモデル生物であり、セントロメアやテロメアにおいて高等真核生物と同等の凝縮クロマチン構造を有している。また、H3-K9 のメチル化酵素 SUV39H の相同因子として Clr4 が、また HP1 の相同因子として Swi6 が存在し、同様な分子機構で凝縮クロマチン構造が形成されていることが明らかにされている。ところで、RNA 干渉(RNAi)と呼ばれる現象は、細胞内に導入された短い二本鎖 RNA によって、それと相補的な配列を有する mRNA が特異的に分解される現象として知られ、線虫からヒトに至るまで良く保存された機構である<sup>3)</sup>。興味深いことに、分裂酵母ではそれまでに線虫やショウジョウバエで同定されていた、RNAi に関わる代表的な因子、Argonaut、Dicer、RNA-dependent RNA polymerase と良く似た遺伝子が1

セットずつ存在し(*ago1*<sup>+</sup>, *dcr1*<sup>+</sup>, *rdp1*<sup>+</sup>)、これらの遺伝子を破壊すると、ヘテロクロマチン構造に異常が起きるといふ事が発見された<sup>4)</sup>。それまでに他の生物種で確認されていた RNAi 現象は、主に mRNA の分解、あるいは翻訳の抑制という、細胞質における転写後の遺伝子抑制に関わる現象であることが示されていたため、RNAi 機構が核内のクロマチン構造の制御に関わると言う事実は、RNAi 機構が様々な生命現象に関わることを示唆する結果と考えられる。実際にこれらの遺伝子破壊株では、セントロメア領域からの両方向の転写が検出され、H3-K9 のメチル化の減少、Swi6 の局在の消失などが顕著に認められたのである<sup>4)</sup>。この結果より、ヘテロクロマチンから転写された両方向の転写産物が二本鎖 RNA を形成し、これが RNAi 因子の働きを介して、ヘテロクロマチンにメチル化酵素 Clr4 や Swi6 を呼び込むという機構が提唱された(図2)。

### 2. ヘテロクロマチンの確立と RNAi 機構

分裂酵母を用いたその後の解析から、RNAi に関わる因子がどのようにヘテロクロマチン構造形成に関わるのか徐々に解明されてきた。まず、RNAi 機構がヘテロクロマチン形成のどの段階に関わるのかについては、一度メチル化酵素 Clr4 を遺伝子破壊することでヘテロクロマチン構造を壊した後、また Clr4 を戻してヘテロクロマチンを再構築させるという実験を行うことで、RNAi 因子がヘテロクロマチン構造を「確立(establishment)」する過程に必須であることが明らかにされた<sup>5,6)</sup>。また、RNAi 因子の破壊株の影響は、ヘテロクロマチン領域で異なっており、特に外から人為的に挿入されたマーカー遺伝子領域で



**図2 高等真核生物の RNAi 機構と分裂酵母のヘテロクロマチン形成機構の比較**  
 ヒトや線虫における RNAi 機構では、長い二本差 RNA (dsRNA) が Dicer の働きによって短い二本差 RNA (siRNA) に分解され、Argonaut (Ago) を含む RISC 複合体が、一本鎖 siRNA を取り込み、相補的な mRNA の分解、あるいは翻訳の抑制を行う。一部の生物種では、RNAi のシグナルが、RNA 依存 RNA ポリメラーゼ (RdRP) の働きによって増幅されていると考えられている (右図)。一方分裂酵母では、セントロメア等の繰り返し配列に由来する双方向の RNA 転写産物が二本鎖を形成し、これが Dcr1 によって分解された後、Ago1 を含む RITS 複合体に取り込まれる。この RITS 複合体が、RNA の相補性を利用してヘテロクロマチン領域にターゲットすることで、H3-K9 メチル化と Swi6 のリクルートを行うと考えられている。分裂酵母の現象は主に核内の現象であり、細胞質が主な機能の場と考えられている他の生物種の RNAi 機構とどのように関わるのか、まだ明らかにされていない。

その影響が顕著に認められることから、シスとして働く領域からヘテロクロマチンを隣接するユークロマチン領域へ拡張する過程に、特に重要な働きをしていることが示唆されている<sup>6)</sup>。個々の染色体領域で、RNAi 機構の変異が及ぼす影響に違いが見られる理由については、特徴的な DNA 一次配列の存在すること、またその配列を認識する DNA 結合因子の働きで、RNAi 機構非依存的に Clr4 や Swi6 のリクルートが行われているのではないかと考えられている<sup>7,8)</sup>。

### 3. ヘテロクロマチン化に関わる RNAi 因子

個々の RNAi 因子の役割については、生化学的な解析によってその詳細が解明されてきている。RNAi 因子の一つである Ago1 は、セントロメアのサイレンシングに関わることが以前から知られていたクロモドメインタンパク質 Chp1、新規因子である Tas3 と一緒に複合体を形成し、

この複合体が実際にヘテロクロマチンに由来する短い RNA (siRNA) を含んでいることが明らかにされた<sup>9)</sup>。RITS (RNA-induced transcriptional silencing) と名付けられたこの複合体は、高等真核生物における RISC (RNA-induced silencing complex) 複合体に相当するものと考えられ、ヘテロクロマチンに由来する一本鎖 siRNA を利用し、ヘテロクロマチン領域にターゲティングするという機構が考えられている (図2)。またこの RITS 複合体は、Rdp1、Hrr1 (RNA ヘリカーゼ様因子)、Cid12 (ポリ A ポリメラーゼ様因子) から構成される RDRC 複合体 (RNA-directed RNA polymerase complex) と物理的に相互作用し、両複合体がヘテロクロマチンから転写される mRNA 上に局在することが明らかにされている (図3)<sup>10)</sup>。これらの結果から、RITS と RDRC がセントロメアから転写

された non-coding RNA 上に局在し、RNA プラットフォームに相互作用することで、RNAi 因子がヘテロクロマチンへ局在し、Clr4 や Swi6 を安定に呼び込むという機構が提唱されている (図3)。

セントロメアに由来する転写産物が二本鎖 RNA を形成し、これが最初のきっかけとなってヘテロクロマチン構造が構築されると仮定すると、RNAi 機構が Clr4 によるメチル化を制御する、いわば上流の機構になるはずだが、実際はそう単純な図式では説明できないようである。確かに RNAi の遺伝子破壊株では、特にセントロメアにおいて顕著に H3-K9 メチル化の減少が見られるが、完全に消失するわけではなく多くの領域でメチル修飾が維持されたままである<sup>6)</sup>。また、逆にヘテロクロマチンへの RITS と RDRC の局在は Dcr1 だけでなく Clr4 の欠損株でも見られなくなる<sup>9,10,11)</sup>。この結果は、RNAi 因子によるメチル化の導入と、メチル化の介した RNAi 因子の局在

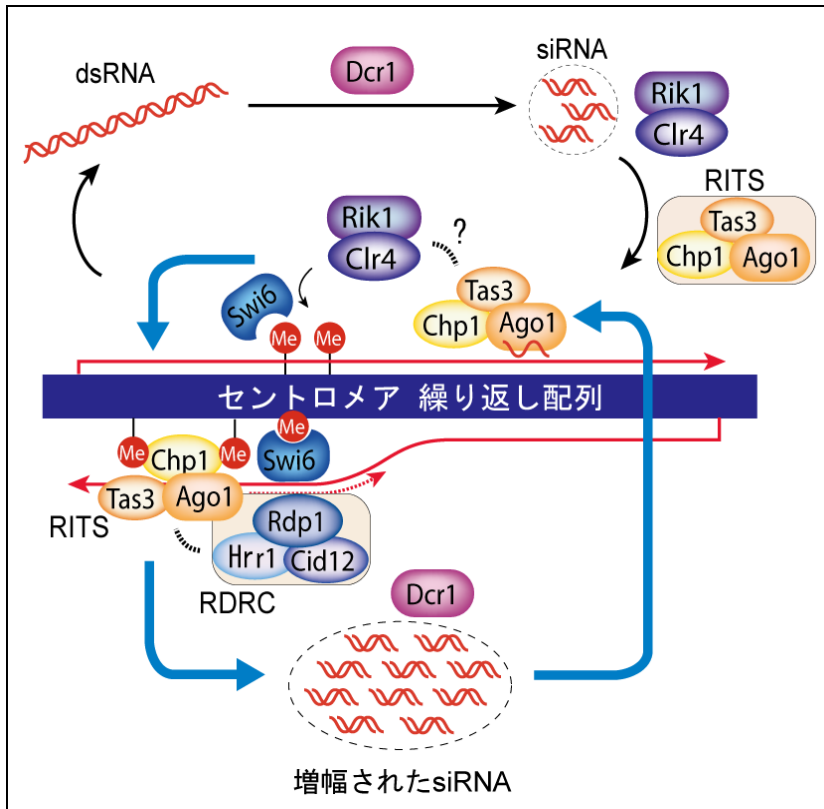


図3 分裂酵母ヘテロクロマチン化の自己増強ループモデル<sup>10, 11)</sup>

ヘテロクロマチン化の最初の過程には、転写された RNA によって形成される二本鎖 RNA が必須であり、これが RITS 複合体を呼び込み最初の H3-K9 のメチル化を促す(上のループ)。しかし、これだけではヘテロクロマチン化には不完全であり、このメチル化をきっかけにクロモドメインを含む Chp1 の働きや、Rdp1 を含む RDRC 複合体の働きによって siRNA 産生を促進し、全体のシグナルが増強されることによって(下のループ)、完全な凝縮クロマチンが形成されると考えられている(文献10, 11より改変)。

が相互に依存している複雑な機構の存在が推測される。この問題を解決する機構として、「自己増強ループ」というモデルが提唱されている(図3)<sup>11)</sup>。このモデルでは、二本鎖 RNA が最初のきっかけとなり RITS の働きでメチル化を導入するが、この働きだけでは不十分であり、このメチル化を介して今度は RITS と RDRC の協調的な働きでヘテロクロマチン化のシグナルを増強し、全体としての凝縮クロマチン構造が維持されるという機構で上記の相互依存の関係が説明しており、今後のさらなる解析によって、その詳細が検証されると期待される。

ヒストンメチル化酵素である Clr4 を欠損させると、RNAi 因子のヘテロクロマチン局在も消失し、小さな siRNA の蓄積も見られなくなることから、H3-K9 メチル修飾がヘテロクロマチン構造形成の全体を結びつける重要な修飾であることは間違いないと思われる。上記のモデルを踏まえた上で、Clr4 がどのようにヘテロクロマチン領域にリクルートされるかについては、まだ完全には解明されていない。実際 Clr4 自身や、Clr4 と遺伝学的な相関が確認されていた Rik1 を精製することで、Clr4 と Rik1 が Cullin と呼ばれる E3 ユビキチンリガーゼ複合体と相互作用していることが複数のグループから報告された<sup>12,13)</sup>。実際に Clr4-Rik1 を含む複合体が、ヒストン H2B に対してユビキチン化活性を持つことが示されているが、これが本来の基質かどうかは明らかにされていない。またヘテ

ロクロマチンに由来する RNA の産生に、通常の RNA ポリメラーゼ II が必要であるという興味深い報告がなされている<sup>14,15)</sup>。RNA ポリメラーゼ II の関与と、Rik1 が DDB1 や CPSF-A と相同性を有するという事実から、DNA 損傷で見られるような特殊な DNA 構造や、あるいは RNA ポリメラーゼ II の伸長阻害がヘテロクロマチン構造形成に関わるという、興味深いモデルが出されているが<sup>16)</sup>、ユビキチン化がどのように Clr4 の機能と関わるか、今後の解析が期待される。

### III. 高等真核生物のヘテロクロマチンと RNAi

ヘテロクロマチンのような高次クロマチン構造の形成に RNA 分子が重要な働きをする事については、分裂酵母以外の高等真核生物でも様々な知見が得られつつある。植物では古くから、RNA の導入によって相同 DNA 配列に DNA のメチル化修飾が起こる RdDM(RNA-dependent DNA methylation)という現象が知られている。DNA のメチル化は、ヒストンのメチル化修飾と同様に、高等真核生物での重要なエピジェネティックマークとして知られ、トランスポゾンや繰り返し配列が集積するシロイヌナズナのヘテロクロマチン領域では、DNA のメチル化とヒストンのメチル化修飾が非常に良く相関することが明らかにされている<sup>17)</sup>。実際に RdDM に必須な因子として、DNA やヒストンのメチル化酵素に加えて、RNAi 機構に関わる因

子が同定されていることから、植物の RdDM とそれに引き続くクロマチン構造の変化にも RNAi 関連因子が関与していると考えられている<sup>18)</sup>。また植物では、他の真核生物種と共通して見られる3種類の RNA ポリメラーゼ I, II, IIIに加え、第4の分類に属するRNAポリメラーゼIVが存在し、これがヘテロクロマチン領域からの転写に重要な役割を果たしていることが明らかにされている<sup>19,20)</sup>。分裂酵母で明らかにされた RNA ポリメラーゼ II との機能的な相関について今後明らかにされるものと期待される。

植物以外的高等真核生物でも、RNAi 因子とクロマチン構造変換との関連が明らかにされている。まずショウジョウバエでは、RNAi に関連する因子の変異によってヘテロクロマチン構造に起因するサイレンシングが見られなくなり、ヘテロクロマチン領域の H3-K9 メチル化や HP1 の局在の減少が報告されている<sup>21)</sup>。また、ホメオティック遺伝子群の制御に重要な、*Fab-7* と呼ばれる領域を介したサイレンシングや核内の遺伝子座間の相互作用に、RNAi 因子が必要であることが報告されている<sup>22)</sup>。この結果は、セントロメアなどの構成的ヘテロクロマチンに限らず、発生過程での遺伝子の抑制にも、そのクロマチン構造変化の際に RNAi 因子が重要な働きをしている事を示唆する結果と考えられる。また、脊椎動物細胞のモデルとして良く用いられるニワトリの DT40 細胞株を用いた実験で、この細胞にヒトの 21 番染色体を持たせた融合細胞を作成し、DT40 の Dicer の遺伝子を欠損させると、やはりセントロメアの機能不全とともに、ヒト 21 番のセントロメアのサテライトリピートに由来する RNA が蓄積し、HP1 の局在変化を引き起こすことが明らかにされている<sup>23)</sup>。同様な現象が Dicer を欠損させたヒトの ES 細胞でも観察されており<sup>24)</sup>、RNAi の機構が高等真核生物のヘテロクロマチン形成においても、重要な役割を果たすことを示した結果と考えられる。これらの高等真核細胞において、siRNA がどのように核内のクロマチンに結びつくのか、その詳細なメカニズムはまだ明らかにされていない。分裂酵母で明らかにされた機構とどのように関連するのか、今後解明されると思われる。

## おわりに

以上、ヘテロクロマチン構造形成と RNAi 機構の関連について、最も研究の進んでいる分裂酵母の話題を中心に紹介した。これまでの精力的な研究によって、様々な因子や複合体が同定され、RNAi の機構がどのように核内のクロマチン構造変化に関わるのか、徐々に解明されてきた。分裂酵母で得られた知見が高等真核生物で

の機構とどのように関連してくるのか、今後の研究によって明らかにされていくものと考えられる。しかし、本来ヘテロクロマチンは凝縮した構造を保ちその領域からの転写を抑制するはずの構造なのに、何故その最初いきっかけに RNA の転写が必要になるのか？また、主として核の外で行われている転写後の遺伝子サイレンシングと、核内のクロマチン構造変換がどのように関連しているのか？さらに、遺伝子解析のツールとして広く使われるようになり、今後臨床的な応用も期待されている RNAi であるが、単純に2本鎖の RNA を導入するだけで、私達ヒトの細胞においても核内のクロマチン構造変換を導き得るのか？これらの疑問は、今後の解析によって解明されるべき、興味深い課題と考えられる。

## 文献

- 1) Grewal, S.I., Elgin, S.C.: *Curr Opin Genet Dev*, **12**, 178-187 (2002)
- 2) Nakayama, J. et al.: *Science*, **292**, 110-113 (2001)
- 3) Meister, G., Tuschl, T.: *Nature*, **431**, 343-349 (2004)
- 4) Volpe, T., et al.: *Science*, **297**: 1833-1837 (2002)
- 5) Hall, I.M., et al.: *Science*, **297**, 2232-2237 (2002)
- 6) Sadaie, M., Iida, T., Urano, T., Nakayama, J.: *EMBO J.*, **23**, 3825-3835 (2004)
- 7) Jia, S., Noma, K., Grewal, S.I.: *Science*, **304**, 1971-1976 (2004)
- 8) Kanoh, J., Sadaie, M., Urano, T., Ishikawa, F.: *Curr Biol*, **15**, 1808-1819 (2005)
- 9) Verdel, A., et al.: *Science*, **303**, 672-676 (2004)
- 10) Motamedi, M. R. et al.: *Cell*, **119**, 789-802 (2004)
- 11) Noma, K. et al.: *Nat Genet.*, **36**, 1174-118 (2004)
- 12) Hornm P.J., Bastie, J.N., Peterson, C.L.: *Genes Dev*, **19**, 1705-1714 (2005)
- 13) Jia, S., Kobayashi, R., Grewal, S.I.: *Nat Cell Biol*, **7**, 1007-1013 (2005)
- 14) Kato, H., et al.: *Science*, **309**, 467-469 (2005)
- 15) Djupedal, I., et al.: *Genes Dev*, **19**, 2301-2306 (2005)
- 16) Horn, P.J., Peterson, C.L.: *Chromosome Res*, **14**, 83-94 (2006)
- 17) Lippman, Z., et al.: *Nature*, **430**, 471-476 (2004)
- 18) Chan, S.W. et al.: *Science*, **303**, 1366 (2004)
- 19) Onodera, Y. et al.: *Cell*, **120**, 613-622 (2004)
- 20) Herr, A.J., Jensen, M.B., Dalmay, T., Baulcombe, D.C.: *Science*, **308**, 118-120 (2005)

- 21) Pal-Bhadra, M. et al.: *Science*, **303**: 669-672 (2004)
- 22) Grimaud, C., et al.: *Cell*, **124**, 957-971 (2006)
- 23) Fukagawa, T. et al.: *Nat Cell Biol*, **6**, 784-791 (2004)
- 24) Kanellopoulou, C. et al.: *Genes Dev*, **19**, 489-501 (2005)