

# ヘテロクロマチン構造からみる 非コードDNAと染色体

中山潤一

染色体にはサテライトDNAやトランスポゾンなど、さまざまな非コードDNAが存在している。これらの配列は長い間ゲノム上の「ジャンク」、あるいは利己的に増殖する寄生因子と考えられてきた。しかし、非コードDNAはヘテロクロマチンとよばれる高次のクロマチン構造を介して、セントロメアやテロメアとよばれる、染色体機能に必要な機能ドメインの構築に寄与している。本稿では、非コードDNAがどのように高次クロマチン構造を形成し染色体機能を制御しているのか、その分子メカニズムについて考察する。

**キーワード** ● サテライトDNA, ヘテロクロマチン, RNAサイレンシング, セントロメア, テロメア

## はじめに

私たちヒトを含む真核生物のゲノムDNAには、タンパク質や機能性RNAをコードしていない、いわゆる「非コードDNA」が存在する。代表的な非コードDNAには、サテライトDNAと称される単純な反復配列や、トランスポゾンなどが含まれる。一見すると、これらの配列はホストのゲノムにとって無益であり、場合によっては必須遺伝子の機能を脅かし、ホストに悪影響を与えうる存在となる。また、膨大な量の非コードDNA配列をゲノム中に保持し、分裂のたびにそのDNAをコピーするために費やす細胞のエネルギーは計り知れない。非コードDNAの果たす役割はいったい何なのか？非コードDNAの存在意義については、染色体という視点で考えるとその役割がみえてくる。非コードDNAはヘテロクロマチンとよばれる高次クロマチン構造を形成することで、染色体の機能の維持に寄与しているのである。本稿では、現在までに明らかにされているヘテロクロマチン構造形成の分子機構を説明したのち、ヘテロクロマチンと非コードDNAと

の関係について議論する。

## 1 ヘテロクロマチンとは

ヘテロクロマチンとは、細胞周期を通じて常に凝縮したままのクロマチン構造を指す言葉として、1920年代にドイツの細胞生物学者Emil Heitzによってつけられた名称である。ヘテロクロマチンに共通する特徴として、①単純な反復配列やトランスポゾンなどの転移因子が多く存在する、②タンパク質をコードする通常の遺伝子がほとんど存在しない、③減数分裂期での組換えがほとんど起こらない、④細胞周期の遅い時期に複製される、などが明らかにされている。しかし近年の解析から、これらの特徴がすべてのヘテロクロマチンに共通するものではなく、「凝縮した (condensed)」クロマチン構造の総称ととらえるのが適当と考えられている。

ヘテロクロマチンはその性質から構成的 (constitutive) ヘテロクロマチンと条件的 (facultative) ヘテロクロマチンに大別される。前者はセントロメアやテロ

Heterochromatin linking noncoding DNA and chromosomal function

Jun-ichi Nakayama : Graduate School of Natural Sciences, Nagoya City University (名古屋市立大学大学院システム自然科学研究科)

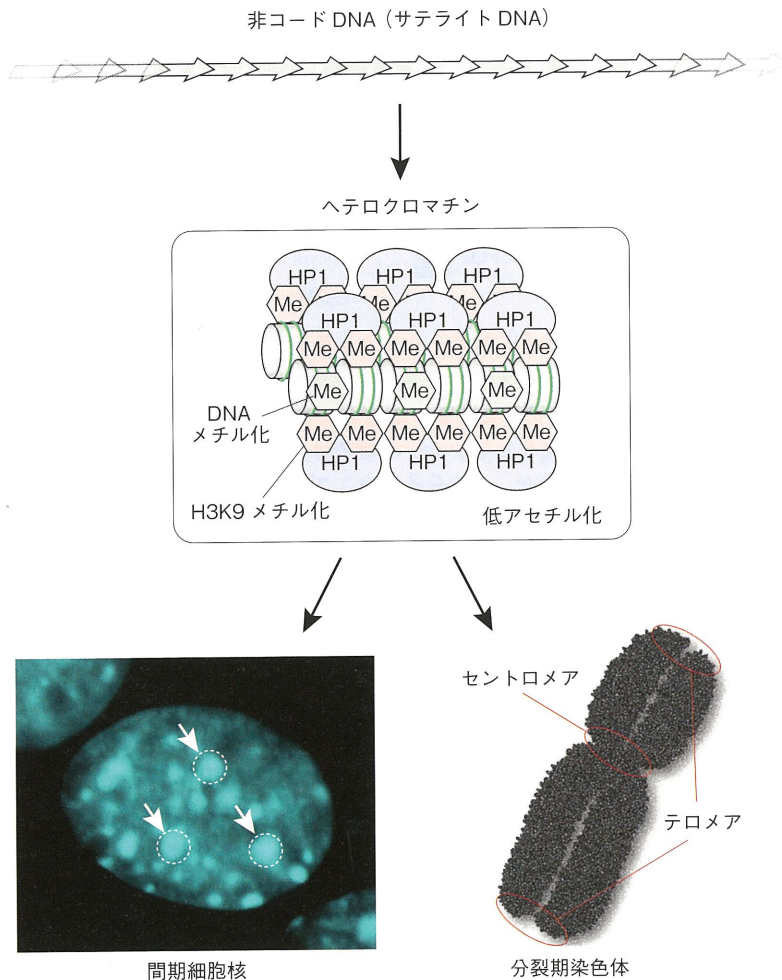


図1 非コードDNAとヘテロクロマチン

上段) 非コードDNA (サテライトDNA) の模式図。中段) サテライトDNAから形成されるヘテロクロマチン構造の模式図。ヘテロクロマチンは低アセチル化に加えてヒストンH3の9番目のリジンのメチル化が重要なマークとなっている。このメチル化を認識して進化的に保存されたHP1が結合し抑制的なクロマチン構造を形成している。哺乳類や植物ではDNAのメチル化も非コードDNAの重要なマークとしてヘテロクロマチン化に協調的に寄与している。左下) マウスNIH3T3細胞をDAPIで染色した図。DAPIで強く染色されるヘテロクロマチン領域を矢印で示した。右下) 分裂期染色体の模式図。セントロメアとテロメアに非コードDNAから形成されるヘテロクロマチンが存在する

メアなどに存在する凝縮クロマチン構造であり、その領域はサテライトDNAやトランスポゾンなどの非コードDNAによって占められ、タンパク質をコードする通常の遺伝子はほとんど存在しない(図1)。一方、条件的ヘテロクロマチンとは、通常遺伝子に富み転写活性がみられるような染色体領域が、細胞分化に伴い凝縮したヘテロクロマチンである。最もよく知られてい

る例が哺乳類の雌細胞でみられる不活性化X染色体である。

## 2 ヘテロクロマチンの分子構造

クロマチンの基本単位であるヌクレオソームは、H2A, H2B, H3, H4の4種類のコアヒストンが2個

ずつで構成される八量体のコアにDNAが巻き付いた構造をもつ。このヒストンはアセチル化、メチル化、ユビキチン化などの翻訳後修飾を受け、その修飾の変化はさまざまな生命現象と密接に結びついている。ヘテロクロマチンは概して転写活性が抑制されており、転写活性化の指標として知られるアセチル化のレベルが低い<sup>1)</sup>。この低アセチル化に加えて、ヘテロクロマチン形成に重要な修飾がヒストンのメチル化修飾である。

ヒストンH3の9番目のリジンのメチル化(H3K9me)は、ヘテロクロマチンを規定する最も重要な修飾である<sup>2)</sup>。このメチル化は、進化的に保存されたSUV39Hファミリーのメチル化酵素によって導入され、メチル化されたヒストンは、クロモドメイン(chromodomain: chromatin-modifier-organizer, 約36アミノ酸残基からなる進化的に保存されたドメインで、多くのクロマチン結合タンパク質に見出される)をもつタンパク質によって認識、結合される<sup>3)</sup>。その最も代表的な因子がHP1(heterochromatin protein 1)である。二量体を形成したHP1がこのH3K9meを認識して結合し、さまざまなクロマチン制御因子をリクルートすることで抑制的なクロマチン構造が形成されている(図1)<sup>4)</sup>。

ヒストンのメチル化修飾とならんでヘテロクロマチン形成において重要な役割を果たすのがDNAのメチル化である。ヒトや植物の細胞では、シトシン、特にCpGという配列のシトシンがメチル化される。ヒトやマウスなどの高等真核生物では、DNAメチル化が遺伝子発現制御にかかわることが知られているが、他の多くの生物種においては、DNAメチル化はサテライトDNAやトランスポゾンなどの非コードDNA上に高密度に存在している。非コードDNA領域では、ヒストンH3K9のメチル化とDNAメチル化が協調的に働き、抑制的な高次クロマチン構造の形成に寄与している(図1)<sup>5)</sup>。

### 3 ヘテロクロマチン化とRNAサイレンシング

ヘテロクロマチンはヒストンのメチル化修飾とHP1の結合によって特徴付けられる構造であるが、そもそもサテライトDNAやトランスポゾンなどの非コード

DNAはどのような分子メカニズムでヘテロクロマチン化されているのか。その機構を理解するうえで、RNAサイレンシングとの関連を考える必要がある。ここでは分裂酵母というモデル生物を使って明らかにされた、ヘテロクロマチン化とRNAサイレンシングの関連をまず説明する。

分裂酵母は、セントロメアやテロメアなどの染色体領域に、高等真核生物と構造的によく似たヘテロクロマチン構造を有している。実際にSUV39Hの相同因子であるClr4によってヒストンH3K9がメチル化され、このメチル化修飾を標的としてSwi6、Chp2という2種類のHP1タンパク質が結合し、抑制的なクロマチン構造が形成されている<sup>3) 6)</sup>。興味深いことは、このヘテロクロマチンの維持にRNAサイレンシングに関連する因子が必要とされることである<sup>7) 8)</sup>。

最近の研究によって明らかにされたヘテロクロマチン化の分子機構を図2に示す。まずセントロメアはRNAポリメラーゼIIによって細胞周期のS期に転写され、転写されたRNAはRNA依存RNAポリメラーゼを含むRDRC(RNA-dependent RNA polymerase complex)によって二本鎖RNAに変換される<sup>9)</sup>。次にこの二本鎖RNAがDcr1の働きによって短い二本鎖のsiRNAに切断され、ARC(argonaute siRNA chaperone)を介してAgo1に取り込まれる。Ago1はTas3、Chp1とともにRITS(RNA-induced transcriptional silencing)複合体を形成し、Chp1のクロモドメインによるH3K9meへの結合と、Ago1に取り込まれたsiRNAと新生RNAとの塩基対形成の両方の作用を通じてヘテロクロマチン領域をターゲットする<sup>10) 11)</sup>。クロマチンへ結合したRITSはさらにClr4を含むCLRC(Clr4-containing complex)を呼び込み、新たなH3K9meをもたらす。このRNAサイレンシング経路とヘテロクロマチン化は、関連する因子や複合体間の密接な相互作用によって支えられ<sup>12)</sup>、しかも全体が自己増強型のループ(self-enforcing loop)として機能していると考えられている<sup>13)</sup>。

分裂酵母に限らず、他の高等真核生物でもヘテロクロマチン化とRNAサイレンシング経路の関与が明らかにされつつある。例えば植物では、ゲノム中に存在するトランスポゾンの抑制に、24塩基の小分子RNA

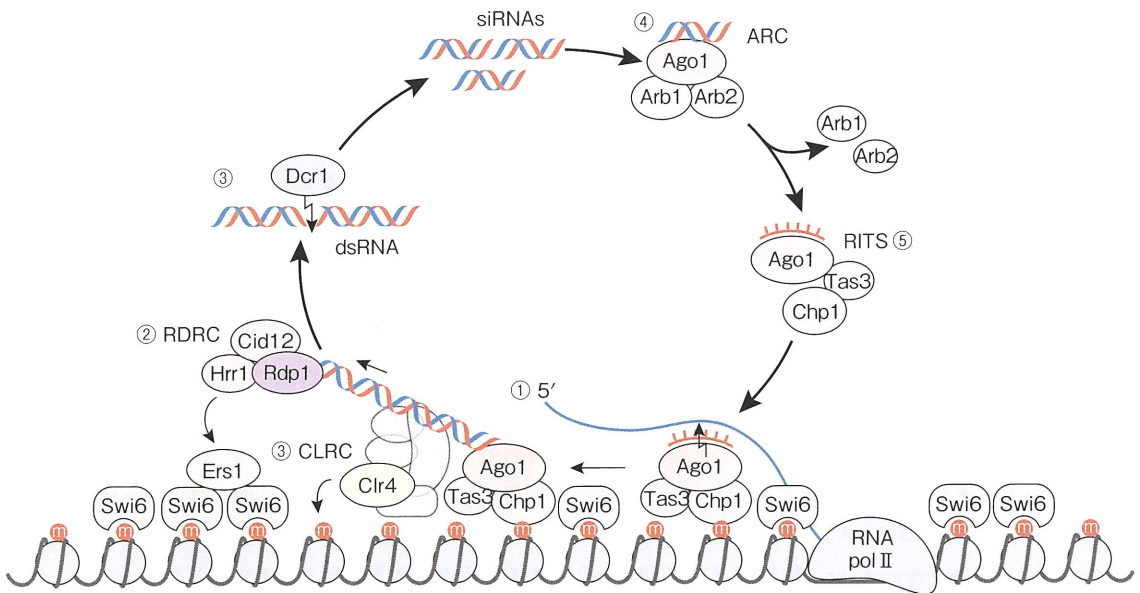


図2 RNAサイレンシング機構を介した分裂酵母ヘテロクロマチン形成機構

①セントロメアに存在する非コードDNAは、細胞周期のS期にRNAポリメラーゼⅡによって転写される。②この非コードRNAはRDRC複合体によって二本鎖RNAに変換されたのち、③Dcr1の働きによって短い二本鎖siRNAに分解される。④この二本鎖siRNAはいったんAgo1を含むARC複合体に取り込まれたのち、⑤RITS複合体へ受け渡され、Ago1のスライサー活性によって一本鎖siRNAに変換される。RITS複合体はRNA-RNAの相補性とChp1のクロモドメインとH3M9meとの相互作用を利用してクロマチンヘターゲットする。このRITSのターゲッティングがメチル化酵素Clr4を含むCLRC複合体を呼び込み、抑制的クロマチン構造が維持されている

(siRNA)が重要な役割を果たしている。この過程では分裂酵母と同様にトランスポゾン由来のRNAがRNAサイレンシング経路によってプロセスされ、その過程が標的領域のH3K9メチル化や、DNAメチル化をひき起こしている<sup>14)</sup>。また、ショウジョウバエや脊椎動物の生殖系列でのトランスポゾンの抑制には、PIWIとよばれるArgonauteファミリータンパク質と、piRNAとよばれる小分子RNAが働いている。PIWIは主に核内の局在しており、piRNAによる抑制には分裂酵母や植物と似た分子機構が示唆されている<sup>15)</sup>。

ヘテロクロマチン化とよく似た分子機構が、大きな染色体改変に寄与する例が知られている。単細胞原生動物である繊毛虫類テトラヒメナは、細胞内に大核と小核という2種類の核を有している。大核は小核内のゲノムが断片化・増幅された結果生み出された数千もの染色体を有し、遺伝子の活発な転写が行われている。小核のゲノムから大核のゲノムをつくり出す際、遺伝

子以外の不要な非コードDNAが切り出されるが、その際に小分子RNAとヒストンのメチル化修飾、またメチル化を認識するクロモドメインタンパク質が重要な役割を果たしている<sup>16)</sup>。他の生物種でみられる典型的なヘテロクロマチンとは異なるが、トランスポゾンなど外来ゲノム領域を認識する面においては、進化的に保存された共通の機構と考えられる。

前記のように、さまざまな生物種においてRNAサイレンシングの経路とヒストンH3K9meの導入が密接に結びついている。小分子RNAとヒストンのメチル化修飾、どちらがより重要な分子的要因なのかについての議論がある。しかし、分裂酵母での研究から、RNAサイレンシング経路が破綻してもヘテロクロマチンが維持されているという報告があるほか<sup>17) 18)</sup>、ヒストンのメチル化酵素を人為的にユークロマチン領域にターゲットさせるとRNAサイレンシング経路非依存的にヘテロクロマチン化が誘導されることが報告されてい

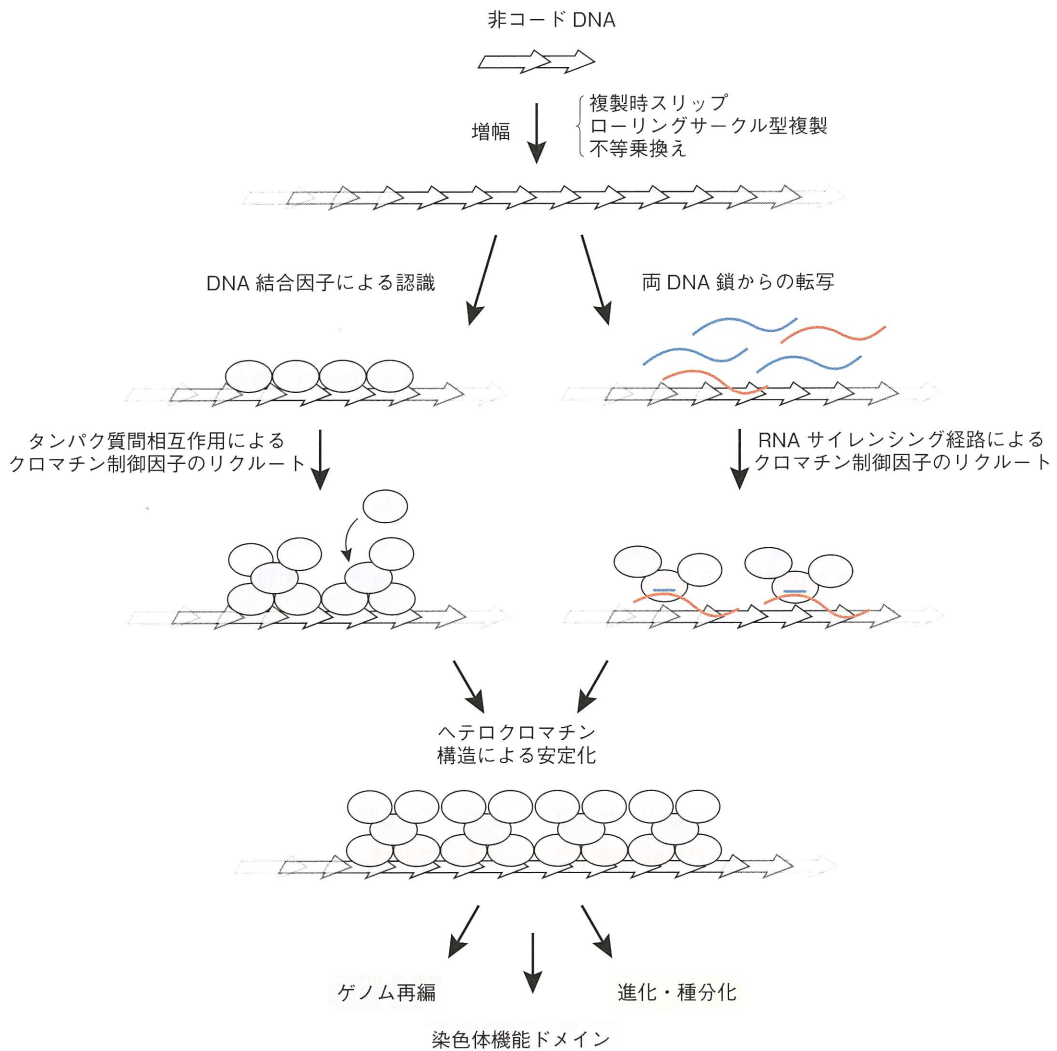


図3 非コードDNAの増幅と染色体機能

ゲノム中の非コードDNA（サテライトDNA）は、複製時のスリップやローリングサークル型複製、不等乗換えを介して増幅する。増幅した非コードDNAは、リピート内部の塩基配列を認識するDNA結合タンパク質によって認識され、ヒストン修飾酵素やリモデリング因子のリクルートによってヘテロクロマチン構造が形成される（中段左）。非コードDNAは潜在的なプロモーターを介して転写され、両DNA鎖から転写されたRNAが二本鎖RNAを形成する。この二本鎖RNAは細胞内のRNAサイレンシング経路を介してRNAの分解、クロマチン構造変換を導き最終的にヘテロクロマチン化される。ヘテロクロマチン構造によって増幅したサテライトDNAは安定化され、セントロメアやテロメアなど染色体機能ドメインの構築を促進するほか、ゲノムの大きな再編、その結果として種分化に寄与していると考えられる。本モデルではサテライトDNAについて記載しているが、増幅するトランスポゾンも同様なメカニズムによってヘテロクロマチン化され、染色体機能に貢献していると考えられる。

る<sup>19)</sup>。これらの結果から考えて、RNAサイレンシング経路は、標的領域にH3K9meをもたらすための1つの経路と考えるのが適当だと考えられる。

#### 4 非コードDNAとヘテロクロマチン

以上、ヘテロクロマチンの分子機構を踏まえたうえで、非コードDNA、特にサテライトDNAとヘテロク

ロマチン化との関連について考えてみたい(図3)。サテライトDNAとは、タンデムにくり返された反復配列であり、多くの場合ゲノムにメガ塩基単位で存在し、セントロメア近傍やサブテロメア領域に見出される<sup>20)</sup>。サテライトDNAとは、そもそもATに富むといったその特殊な塩基組成のために、ゲノムDNAを密度勾配遠心で分離した際に、他のゲノム領域とは異なる比重の領域にバンドを形成することからこの名前が付けられた。ATに富むという特徴に加えて、180塩基程度のリピート配列が見出される場合もある。ATに富む特性は構造上フレキシブルな折りたたみ構造をとりやすく、さらに180塩基前後のリピートは各リピートの単位がヌクレオソーム構造の形成を促進、あるいは安定化に寄与していると考えられている<sup>21)</sup>。

これらのサテライトDNAが増幅するしくみとして、複製時のスリップ<sup>※1</sup>、ローリングサークル型増幅<sup>※2</sup>、不等乗換え<sup>※3</sup>などのしくみがかかっていると考えられている<sup>20)</sup>。ホストである細胞は、このサテライトDNAの増幅を厳密にコントロールしているのであろうか。サテライトDNAの種類や反復の程度は、近縁種においても大きく異なる例が知られている<sup>21)</sup>。サテライトDNAの増幅はゲノム進化の過程で比較的緩くコントロールされ、ある程度増幅した後にヘテロクロマチン構造によって安定化されているように見える。では、細胞は増幅したサテライトDNAをどのように認識しているのか。最もシンプルな方法はリピートDNA、あるいはその一部を認識し直接結合するDNA結合タンパク質による制御であろう(図3)。ヒトセントロメ

アの $\alpha$ サテライトに結合するCENP-Bはそのような例と考えられる。しかし、配列を直接認識するDNA結合タンパク質では、配列の異なるサテライトDNAが出現した場合すぐには対処できず、タンパク質側の変化が起きるまで増幅を許容する可能性が考えられる。近縁種間で観察されるサテライトDNAの大きな変化はこのような状況を反映しているのかもしれない。

増幅する非コードDNAを制御するもう1つの方法が二本鎖RNAによる認識だと思われる(図3)。多くのサテライトDNAは、潜在的に通常の転写マシナリーによって転写され、ヘテロな長さのRNAを産生する<sup>22)</sup>。近年の解析から、非コードDNAからの転写産物の役割や疾患との関連が示唆されているが<sup>23)</sup>、積極的な役割をもつかの議論にはさらに研究が必要と考えられる。RNAとしての役割は定かではないが、細胞は通常の遺伝子の転写とサテライトDNAのような反復配列の転写産物を二本鎖形成能などで識別し、ヘテロクロマチン化のきっかけとして利用していると考えられる。前述のように、分裂酵母を含む多くの生物種でRNAサイレンシングとヘテロクロマチン化が密接に結びついている背景には、増幅する非コードDNAをRNAによって認識、制御するシステムを別個に発展させてきた結果と考えられる。

## ■ おわりに

そもそもヘテロクロマチンは、非コードDNAの増幅を負に制御するシステムなのだろうか。ヘテロクロマチンの特徴として転写やDNA組換えが抑制されていることが明らかにされている。しかしヘテロクロマチンからの転写は低いレベルで許容されており、DNA組換えも修復もきちんと起きる<sup>24)</sup>。その構造は外観から想像されるよりもかなりダイナミックな構造である。これまでゲノムの「ジャンク」と長い間考えられてきた非コードDNAは、ヘテロクロマチンによって安定化され、セントロメアやテロメアのような染色体の機能の維持に寄与し、さらに染色体の進化、種分化にも寄与してきたと推測される(図3)。近年の解析からヘテロクロマチン形成の分子機構が明らかにされてきたが、非コードDNAをどのように制御しているかにつ

### ※1 複製スリップ

反復DNA配列が複製される際、鋳型DNA鎖と新生DNA鎖の間でずれが生じ、反復配列の単位が増加あるいは減少する現象。

### ※2 ローリングサークル型増幅

環状の二本鎖DNAをゲノムとするプラスミドやウィルスゲノムで用いられる複製様式。リーディング鎖が環に沿って移動し、直鎖状の新生DNAがつくられる。反復DNA配列が同様な機構で複製増幅され、組換えによってゲノムに挿入され増幅する機構の存在が考えられている。

### ※3 不等乗換え

染色体の乗換え(chromosomal crossover)は、通常相同な染色体上の同じ座位で起きるが、反復配列やトランスポソンの存在によって異なる染色体座位の間で乗換えが起きる現象。不等乗換えは遺伝子の重複や欠失の原因になるほか、非コード反復配列の増加や現象をもたらす主要な機構と考えられている。

いてはほとんど解明されていない。今後の研究によって、ヘテロクロマチンを中心としたゲノム維持機構の実体が解明されると期待される。

## 文献

- 1) Jeppesen, P. & Turner, B. M. : Cell, 74 : 281-289, 1993
- 2) Rea, S. et al. : Nature, 406 : 593-599, 2000
- 3) Nakayama, J. et al. : Science, 292 : 110-113, 2001
- 4) Hiragami, K. & Festenstein, R. : Cell. Mol. Life Sci., 62 : 2711-2726, 2005
- 5) Cedar, H. & Bergman, Y. : Nat. Rev. Genet., 10 : 295-304, 2009
- 6) Sadaie, M. et al. : Mol. Cell. Biol., 28 : 6973-6988, 2008
- 7) Volpe, T. A. et al. : Science, 297 : 1833-1837, 2002
- 8) Bühler, M. & Moazed, D. : Nat. Struct. Mol. Biol., 14 : 1041-1048, 2007
- 9) Motamedi, M. R. et al. : Cell, 119 : 789-802, 2004
- 10) Verdel, A. et al. : Science, 303 : 672-676, 2004
- 11) Ishida, M. et al. : Mol. Cell, in press (2012)
- 12) Hayashi, A. et al. : Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 109 : 6159-6164, 2012
- 13) Goto, D. B. & Nakayama, J. : Dev. Growth Differ. 54 : 129-141, 2012
- 14) van Wolfswinkel J. C. & Ketting, R. F. : J. Cell Sci., 123 : 1825-1839, 2010
- 15) Siomi, M. C. et al. : Nat. Rev. Mol. Cell Biol., 12 : 246-258, 2011
- 16) Mochizuki, K. & Gorovsky, M. A. : Curr. Opin. Genet. Dev., 14 : 181-187, 2004
- 17) Reddy, B. D. et al. : Genes Dev., 25 : 214-219, 2011
- 18) Reyes-Turcu, F. E. et al. : Nat. Struct. Mol. Biol., 18 : 1132-1138, 2011
- 19) Kagansky, A. et al. : Science, 324 : 1716-1719, 2009
- 20) Charlesworth, B. et al. : Nature, 371 : 215-220, 1994
- 21) Plohl, M. et al. : Gene, 409 : 72-82, 2008
- 22) Ugarkovic, D. : EMBO Rep., 6 : 1035-1039, 2005
- 23) Ting, D. T. et al. : Science, 331 : 593-596, 2011
- 24) Chiolo, I. et al. : Cell, 144 : 732-744, 2011

## Profile

### 著者プロフィール

中山潤一：1999年、東京工業大学大学院生命理工学研究科博士課程修了、米国コールドスプリングハーバー研究所ポストドク研究員、理化学研究所発生・再生科学総合研究センタークロマチン動態研究チームチームリーダーを経て、2012年より現所属（名古屋市立大学大学院システム自然科学研究科）准教授。新しい研究室の立ち上げに伴い、高次クロマチンと染色体機能、エピジェネティクス制御の解明を一緒に志す大学院生を募集中。

## Book Information

# バイオ実験に絶対使える 統計の基本Q&A

近刊

論文が書ける読めるデータが見える

監修／秋山 徹 編集／井元清哉, 河府和義, 藤渕 航

統計を「ツール」として使いこなすための待望の解説書！研究者の統計に関する悩み・疑問の声を元に、現場で必要となる基本知識を厳選してQ&A形式で解説！豊富なケーススタディーでデータ処理の考え方とプロセスがわかります。

- ◆ 予価（本体 4,200 円＋税）
- ◆ 2色刷り B5 判 約 270 頁
- ◆ ISBN978-4-7581-2034-0

データを出すための統計の力が  
しっかり身に付く！

発行  羊土社