

180	セントロメア領域の転写による染色体異常の発生機構	中川 拓郎
-----	--------------------------	-------

【目的】 転座などの染色体異常は、癌や自閉症などの遺伝性疾患の要因となる。染色体は弛緩したユークロマチンと凝縮したヘテロクロマチンの異なるクロマチン構造を形成する。ユークロマチン領域では転写が活発に起きるのに対して、ヘテロクロマチン領域では転写が抑制されている。興味深いことに、DNA 反復配列が存在するセントロメアなどの染色体領域は恒常的にヘテロクロマチン構造を形成する。しかし、タンパク質をコードしないセントロメア領域を転写抑制する生理学的意義は明らかとなっていない。我々は、分裂酵母を用いて、ヘテロクロマチンの染色体異常への影響を解析した。その結果、ヘテロクロマチンによる転写抑制はセントロメア反復配列を「のりしろ」にした染色体異常の発生を阻止することが分かった。本研究では、転写が染色体異常を引き起こす分子メカニズムを解明することを目的に研究を行った。

【方法】 分裂酵母 *Schizosaccharomyces pombe* を用いて、転写がセントロメア領域で染色体異常を引き起こすメカニズムについて解析した。DNA-RNA 二本鎖に特異的に結合する S9.6 抗体を用いて DNA-RNA 免疫沈降 (DNA-RNA immunoprecipitation : DRIP) を行い、リアルタイム PCR により回収した DNA-RNA 二本鎖を定量した。3 番染色体由来のエキストラ染色体 ChL をモニターすることで、自然発生的に起きる染色体異常の発生頻度を測定した。フラクチュエーション解析することで、1 細胞分裂あたりに染色体異常が発生する頻度を算出した。様々な遺伝子変異株を用いて、DNA-RNA 二本鎖の形成量と染色体異常の発生頻度を決定した。

【結果】 ヘテロクロマチン構造の形成に必要なヒストンメチル化酵素 Clr4/Suv39 を遺伝子破壊するとセントロメア領域で DNA-RNA 二本鎖が蓄積することが分かった。clr4 破壊株で蓄積する DNA-RNA 二本鎖が染色体異常の原因であるのかを明らかにするために、DNA-RNA 二本鎖特異的 RNA 分解酵素である RNaseH1 を clr4 破壊株で過剰発現した。その結果、RNaseH1 の過剰発現により、DNA-RNA 二本鎖が減少し、染色体異常の発生頻度も低下した。次に、DNA-RNA 二本鎖がどのようにして形成するのかを明らかにするために、様々な転写関連因子の遺伝子変異株を用いて解析した。その結果、セントロメア領域での転写の進行停止を促進する Seb1 と転写の進行再開に関与する Tfs1/TFIIS や Ubp3 が、DNA-RNA 二本鎖の形成 (図) と染色体異常に働くことを明らかにした。

セントロメア領域での DNA-RNA 二本鎖の蓄積

