

研究種目：若手研究(A)

研究期間：2007～2010

課題番号：19687001

研究課題名(和文) ヘテロクロマチン構造の確立と維持を制御する分子機構

研究課題名(英文) The molecular mechanisms of heterochromatin establishment and maintenance

研究代表者

中山 潤一 (Nakayama Jun-ichi)

独立行政法人理化学研究所・クロマチン動態研究チーム・チームリーダー

研究者番号：60373338

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：基礎生物学・遺伝・ゲノム動態

キーワード： 遺伝子発現制御、ヘテロクロマチン、RNA 干渉、分裂酵母

### 1. 研究計画の概要

真核生物の染色体に存在する高度に凝縮したヘテロクロマチン構造は、染色体の恒常性維持ばかりでなく、エピジェネティックな遺伝子発現制御にも重要な役割を果たしている。近年このヘテロクロマチン構造の形成に、その領域からの RNA の転写と、RNA 干渉として知られる機構の関与が明らかにされてきた。しかし、どのように RNA のシグナルがクロマチンの構造変換を導くのか、その分子メカニズムの詳細には不明な点が数多く残されている。本研究では、ヘテロクロマチン研究の優れたモデル生物である分裂酵母を用い、遺伝学的な手法による新規 RNAi 関連因子の単離、また生化学的手法による RNAi 関連因子の機能解析を行い、この分子メカニズムの詳細を解明することを目的とする。

### 2. 研究の進捗状況

(1) 新規 RNAi 関連因子の単離と機能解析：RNAi 因子の変異株に特徴的な、ヘテロクロマチンサイレンシングの異常を指標にしたスクリーニングから、65 の変異体の単離に成功した。これら変異体の表現型を相補するゲノム DNA のスクリーニングから原因遺伝子の同定を行い、*ago1+* や *dcr1+* など既知の RNAi 因子に加えて、新規の RNAi 関連因子を同定することに成功した。興味深いことに、この新規の変異表現型は、*clr4+* や *Hrr1+* の過剰発現によって抑圧されることが明らかになった。この結果より、今回単離した因子が CLRC 複合体と RDRP 複合体を結ぶ機能を果たしていることが推測される。また、既知の RNAi 因子の欠損と一緒に、初めて

致死性を示すような合成致死変異体の単離を目的とした、新規スクリーニング系の開発を進めた。

(2) RNAi 関連因子の機能解析：ヘテロクロマチン構造形成に関与する因子のうち、特に4つのクロモドメインタンパク質、Swi6, Chp1, Chp2, Clr4 の機能の違いに着目し、そのクロモドメインの機能解析を進めた。その結果、RITS の構成要素の一つである Chp1 のクロモドメインのみ、他のクロモドメインには見られない RNA 結合能を有している事を見出した。実際にこの特性が、RNAi 機構の中で働く Chp1 特異的な機能と密接に関わることを明らかにした。また、RNA の代謝に関与することが示唆されていた新規因子 Rmh1 の機能解析を進め、この因子がヘテロクロマチン局在を示すこと、またその局在が Swi6 や Clr4 に依存すること、さらに Rmh1 の過剰発現によって、ヘテロクロマチンサイレンシングが変化することを見出した。

### 3. 現在までの達成度

②概ね順調に進展している

(理由)

新規 RNAi 因子単離を目的としたスクリーニングは順調に進み、実際に変異体の単離とその同定に成功した。しかし、合成致死変異体の単離を目指したスクリーニング系は、さらに改良の必要がある。RNAi 関連因子の機能解析は概ね順調に進んでいる。

### 4. 今後の研究の推進方策

(1) 新規 RNAi 関連因子の単離と機能解析：スクリーニングによって単離された新規 RNAi 因子の機能解析を進め、RNAi 機構を

介したヘテロクロマチン構造形成の分子メカニズムの解明を試みる。RNAi 因子の変異と合成致死性を示す変異を単離するためのスクリーニング系の構築を進める。

(2) RNAi 関連因子の機能解析: Chp1 クロモドメインの RNA 結合能が、H3K9 メチル化ヒストンの認識とどのように関与しているのか、生化学的な解析を引き続き進める。Rmh1 のヘテロクロマチン局在がその機能とどのように関連するのか、生化学的、分子生物学的解析によって解明を目指す。

#### 5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 13 件)

1. Shimada, A., Dohke, K., Sadaie, M., Shinmyozu, K., Nakayama, J., Urano, T., and Murakami, Y. Phosphorylation of Swi6/HP1 regulates transcriptional gene silencing at heterochromatin. *Genes Dev.* 23, 18-23 (2009) 査読有
2. Hayashi, M.T., Takahashi, T.S., Nakagawa, T., Nakayama, J., and Masukata, H. The heterochromatin protein Swi6/HP1 activates replication origins at pericentromeres and silent mating-type locus. *Nat. Cell Biol.* 11, 357-62 (2009) 査読有
3. Sadaie, M., Kawaguchi, R., Ohtani, Y., Arisaka, F., Tanaka, K., Shirahige, K., and Nakayama, J. Balance between distinct HP1 family proteins controls heterochromatin assembly in fission yeast. *Mol. Cell. Biol.* 28, 6973-88 (2008) 査読有
4. Iida, T., Nakayama, J., and Moazed, D. siRNA-mediated heterochromatin establishment requires HP1 and is associated with antisense transcription. *Mol. Cell* 31, 178-189 (2008) 査読有
5. Chikashige, Y., Nakayama, J. (8 人中 5 番目), and Hiraoka, Y. Gene expression and distribution of Swi6 in partial aneuploids of the fission yeast *Schizosaccharomyces pombe*. *Cell Struct. Funct.* 32, 149-161 (2008) 査読有

[学会発表] (計 6 件)

1. 中山潤一, 「Chromodomain proteins and RNAi-mediated heterochromatin assembly」 第 32 回日本分子生物学会年会, 2009 年 12 月 9 日, 横浜市

2. 中山潤一, 「Distinct roles of chromodomain proteins in the formation of higher-order chromatin structure」, The 5th International Fission Yeast Meeting, 2009 年 10 月 29 日, 東京都
3. 中山潤一, 「Distinct roles of chromodomain proteins in the formation of higher-order chromatin structure」, 第 21 回内藤カンファレンス, 2008 年 6 月 26 日, 北杜
4. 中山潤一, 「高次クロマチン構造形成と RNA 代謝ネットワーク」, 第 2 回日本エピジェネティクス研究会年会, 2008 年 5 月 10 日, 三島市
5. 中山潤一, 「分裂酵母ヘテロクロマチン構造形成には 2 つの HP1 タンパク質の別個の機能が必要である」, 第 30 回日本分子生物学会年会, 第 80 回日本生化学会 合同年会, 2007 年 12 月 12 日, 横浜市