

染色体間コミュニケーションのメカニズム

丁 大橋

遺伝子情報は DNA 配列コードとして染色体に折りたたまれている。真核生物は、細胞あたり数本から数十本の染色体をもっているが、それらは高度に制御されたメカニズムによって核内に配置されている。その際、染色体の間には、なんらかのコミュニケーションが存在し、多様な生命活動のプロセスと密接な関わりがあると考えられてきた。我々は、減数分裂過程における染色体間コミュニケーションに特定の RNA 分子が関わることを発見した。

1 まえがき

真核生物が地球上で生き延び、大きく繁栄できたのは、環境の変化に適応し、また、病原菌の進入や感染との果てしない戦いを通して無限ともいえる多様性を獲得したからである。こうした生物の多様性を生み出し、進化をもたらしてきた仕組みの1つが有性生殖である。有性生殖を一言でいえば、異なる性をもつ個体間の遺伝情報の交換であり、それは、より具体的には、父方、母方に由来する染色体の間のコミュニケーションである。

生物の情報はすべて遺伝情報として染色体 DNA に書き込まれており、良い情報、つまり生きていくために役立つ遺伝情報をより多く持っている生物が結果的に生存競争において有利な位置を占める。有性生殖につながる細胞分裂は「減数分裂」で、動物でいえば卵子や精子をつくる時の細胞分裂である。減数分裂では、性の異なる個体に由来する染色体 DNA の交換・混合が行われ、その結果、生物が遺伝子を通して多様性を獲得し、種の繁栄と保存を守ってきた。

私たちの細胞には、父母それぞれから受け継いだ2セット(23本×2)の染色体がある。対をなす同じ番号の染色体が相同染色体で、減数分裂においては、相同染色体の間で遺伝子交換(相同組換え)が行われる。遺伝子交換をする前に、まず、相同染色体は、同じ方向に隣り合うように並んで、お互いに相手を見つける。この相同染色体が空間的に近く並ぶ仕組みは染色体間コミュニケーションの第一歩と思われる。私たちは、まず、相同染色体が並び合うことに、テロメアブーケの形成が大きく依存していることを発見した。分裂酵母の生きている細胞で染色体の挙動を可視化すると、染色体の末端(テロメア)がクラスターを形成したテロメアブーケ(テロメアを束ねた花束)と呼ばれる特殊な染色体配置が観察され(図1A)、続いて

テロメアを先頭にする核の往復運動がおり、まるで縄跳びの縄の両端を一緒に握って左右に振った時のように相同染色体が速やかに空間的に近づけられる(図1B)^[1]。私たちの研究グループでは、これまでに、ばらばらだったテロメアが、1箇所にたばねられるテロメアブーケ形成の分子機構を明らかにした^{[2]-[5]}。さらに、私たちは、このようなテロメアブーケの形成と引き続き起こる核運動が、染色体を束ねて整列させ、相同染色体の対合を促進することを見出した^[6]。しかしながら、ある染色体が、たくさん(ヒトの場合は全部で46本)ある他の染色体の中から、どのような仕組みで自分と同じ配列をもつ相同染色体を見つけて横に並ぶか(対合するか)はわからないままであった。私たちは、最近になって、この謎を解く糸口が非コード RNA であることを発見した。

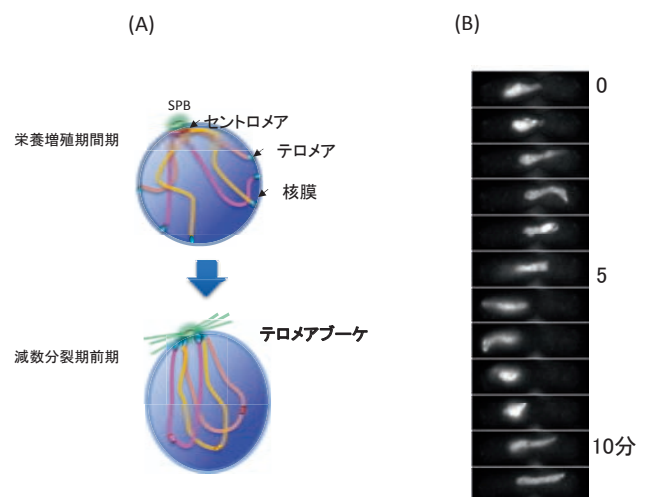


図1 減数分裂前期前期核における染色体空間配向の再構成と核運動 (A) 上、栄養増殖期の間期核の染色体配向。染色体のセントロメア(細胞分裂時に「紡錘糸」が結合する染色体領域)がSPB(紡錘極体)の近くに集まって、テロメア(染色体の末端)が核膜上に散らばっている。下、減数分裂前期前期核の染色体配向。染色体のテロメアがSPBに集まり、セントロメアはSPBから離れて、テロメアブーケを形成する。(B) 減数分裂前期前期核の核運動のライブイメージ。

2 きっかけは核の中で光る1つの点(ドット)

酵母のような単細胞生物からヒトのような高等動物まで、生命活動を支える基本的な分子反応には、広範な一様性が認められることから、生物学研究の分野ではモデル生物の果たす役割は、少なくない。減数分裂はすべての真核生物に普遍的に重要であるにもかかわらず、この過程を高等動物細胞で連続観察することは極めて困難である。一方、分裂酵母では短時間(約8時間)で完了するため観察が比較的容易であり、減数分裂期の染色体の挙動について詳細な解析が為されてきた。私たちは減数分裂のモデル生物として分裂酵母を研究に用いている。

分裂酵母には Mei2 という減数分裂を制御するタンパク質が存在し、そのタンパク質は減数分裂期前期に、*sme2* 遺伝子座という染色体の決まった場所に点状の集積体 (Mei2 ドット) をつくる^[7](図2)。しかし、細胞には相同な *sme2* 遺伝子座が2つあるにもかかわらず観察された Mei2 ドットはほとんどの場合、1つしかない(図2)。この観察結果から、相同染色体上の *sme2* 遺伝子座がいつも一緒の場所に位置(局在)する、つまり対合しやすいことが示唆された。

相同染色体の挙動を観察するために、まず染色体の特定領域を蛍光ラベルした分裂酵母細胞を用意した。それは、染色体の特定の部位にラクトースオペロン (lacO) 配列のリピートを挿入し、この配列に特異的に結合するラクトースリプレッサータンパク質 (LacI) と緑色蛍光タンパク質 (GFP) との融合タンパク質 (GFP-LacI) を発現させて可視化するものである。さまざまな染色体領域の対合を生細胞で観察した結果、減数分裂の進行とともに緩やかに対合頻度が上昇するのが見られた^[6]。*sme2* 遺伝子座の対合頻度を確かめるために、*sme2* 遺伝子座の近くに GFP-LacI が結合できる lacO 配列を挿入し、生きている細胞が減数分裂するときの対合を調べた。その結果、*sme2* 遺伝子座はこれまでに調べたすべての染色体領域よりも初期からすでに高い対合頻度を示すことが分かった(図3)^[8]。さらに、*sme2* 遺伝子を欠失させると (Δ *sme2*) 対合頻度は減少し、*sme2* 遺伝子をほかの遺伝子座 (*ade8*) に挿入する (*ade8 + sme2*) と、移された場所の対合頻度が上昇したことから、*sme2* 遺伝子座が相同染色体の対合を強く促進することが分かった(図4)。また、*sme2* 遺伝子座における相同染色体対合の促進は、テロメアブーケ形成欠損株や核運動欠損株では失われる。このことは、*sme2* 遺伝子座における対合促進反応が、テロメアブーケ形成、および核運動によって相同染色体が互いに近接配置されることが前提となっていることを意味している^[8]。

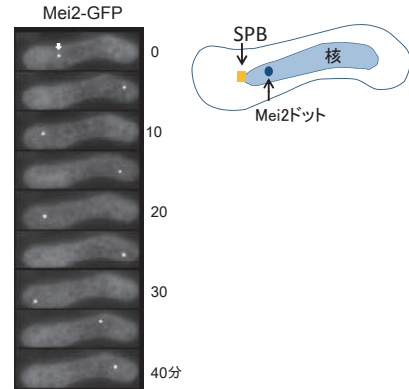


図2 減数分裂期前期の核に見える1つのMei2ドット。生細胞にある Mei2-GFP ドット (矢印)、核運動とともに動く。

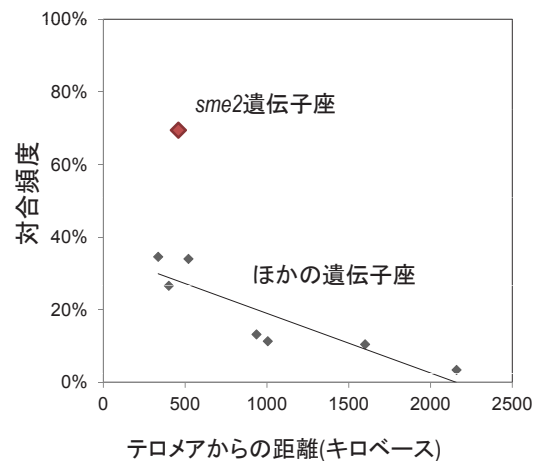


図3 減数分裂期前期の *sme2* 遺伝子座の対合頻度、つまり共局在頻度は、ほかの遺伝子座よりはるかに高い

これらの結果から、テロメアブーケの形成と核運動によって相同染色体が近接した位置に配置され、次に *sme2* 遺伝子座の働きによって相同染色体がお互いに認識し対合することが推測できるようになった。

3 遺伝子座に蓄積した非コード RNA は染色体の相互認識を促進する

それでは、なぜ *sme2* 遺伝子座は高い対合頻度を示すのだろうか。*sme2* 遺伝子は、長さ約 1.5 kb の meiRNA と呼ばれている減数分裂期特異的 RNA をコードする。meiRNA は、通常の伝令 RNA と異なり、タンパク質をコードする遺伝暗号をもたない非コード RNA であることがわかっている^[9]。*sme2* 遺伝子を制御する DNA 配列に変異をいれて meiRNA の転写 (DNA を鋳型とする RNA の合成) を阻害すると対合頻度が減少することから、*sme2* 遺伝子からつくられる meiRNA が対合促進に必須であることが分かった^[8]。さらに、互いに対合する相同染色体の一方だけからの

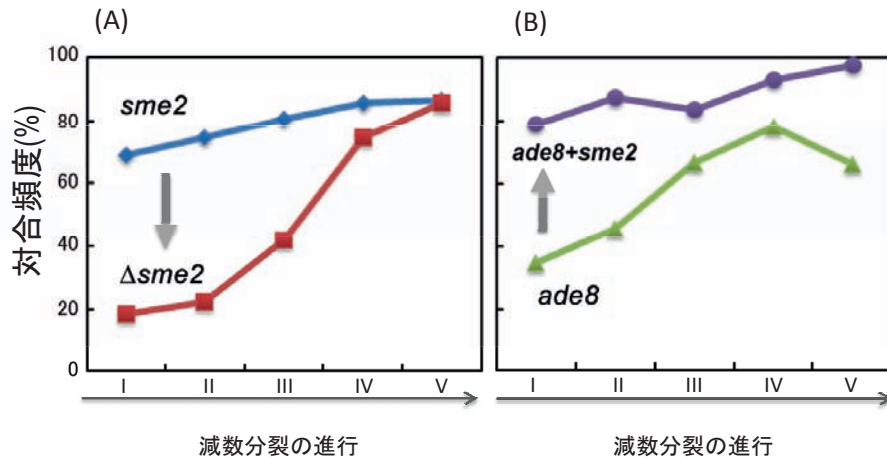


図4 対合頻度は *sme2* の存在に依存する。*sme2* を破壊する (Δ *sme2*) と、対合頻度が減少する (A)。また、*sme2* をほかの遺伝子座 (*ade8*) に挿入する (*ade8+sme2*) と、挿入部位の対合頻度が上昇する (B)。

転写では対合促進が起こらないことから、相同染色体の双方からの meiRNA 転写が対合に必要であることも分かった^[8]。

meiRNA の細胞内局在を調べるために、*sme2* 遺伝子の 5' 末端に U1A tag 配列を挿入し、この配列に結合するタンパク質 (U1Ap) と GFP との融合タンパク質 (U1Ap-GFP) によって U1A tag-meRNA 転写産物を可視化した。meiRNA の局在を可視化すると、Mei2 タンパク質と同じ染色体上の *sme2* 遺伝子座に集積していることが分かった (図5)。Mei2 タンパク質の集積も実は Mei2 タンパク質が meiRNA に結合するために生じていた。また、*sme2* 遺伝子の末端を欠損させると、meiRNA が *sme2* 遺伝子座に留まることができなくなり、対合も阻害されることから、*sme2* 遺伝子座に集積する meiRNA が、相同染色体を見分けて優先的に対合を引き起こす原因であることが明らかになった^[8]。

4 まとめ

哺乳類、植物や真菌類では、DNA 切断を伴う相同組換えが対合に必須である。一方では、ショウジョウバエなどの生物では、DNA 切断を伴う相同組換えがなくても、対合ができることから、DNA 切断に依存しない染色体認識のメカニズムの存在が示唆されている。テロメアブーケの形成と染色体運動は染色体間の空間的距離を縮め、染色体を同じ方向に整列させるが、個々の相同染色体認識に直接に関与するメカニズムではない。染色体上に蓄積する非コード RNA が染色体の認識に寄与するという私たちの発見は、相同染色体認識のメカニズムを世界で初めて提示したものである。対合すべき相同染色体を識別するために、損傷が致命的なエラーにつながる 2 コピーしかないゲノム DNA そのものではなく、DNA をテンプレート (鋳型) に

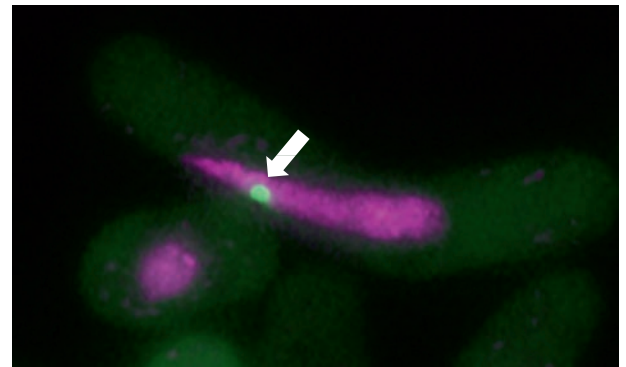


図5 GFP で可視化した meiRNA ドット (矢印) と DNA (マゼンタ) の二重染色

して多数のコピーが合成できる RNA を利用することは、非常に合理的だと考えられる。染色体上のいくつかの場所でこのような非コード RNA の集積があれば、バーコードのように識別しやすい特徴を染色体に与えることができるだろう。今後、*sme2* 遺伝子座以外の対合サイトを同定することによって、共通する染色体 DNA の特徴や結合するタンパク質因子を特定し、RNA 集積の分子メカニズム解明を進めていきたい。

生物には環境の変化への適応や、分化の過程などで多種多様な染色体間コミュニケーション戦略が存在するだろう。そうした一つひとつの戦略機構を解明することは、生命現象の諸問題の解析にとどまらず、農業や医療などへの応用においても不可欠な知見をもたらすことが期待される。私たちは、わずかにその一端を明らかにすることができたというに過ぎないが、減数分裂期における相同染色体のコミュニケーションにおいて、非コード RNA が主要な役割を担っているという発見は、染色体コミュニケーション研究におけるひとつのマイルストーンとなっていくものと期待している。

【参考文献】

- 1 Chikashige Y., Ding D. Q., Funabiki H., Haraguchi T., Mashiko S., Yanagida M., and Hiraoka Y., "Telomere-led premeiotic chromosome movement in fission yeast," *Science*, 264: 270-273, 1994.
- 2 Ding D.-Q., Chikashige Y., Haraguchi T., and Hiraoka Y., "Oscillatory nuclear movement in fission yeast meiotic prophase is driven by astral microtubules as revealed by continuous observation of chromosomes and microtubules in living cells," *J. Cell Sci.*, 111, 701-712, 1998.
- 3 Yamamoto A., West R. R., McIntosh J. R., and Hiraoka Y., "A cytoplasmic dynein heavy chain is required for oscillatory nuclear movement of meiotic prophase and efficient meiotic recombination in fission yeast," *J. Cell Biol.*, 145, 1233-1249, 1999.
- 4 Chikashige Y., Tsutsumi C., Yamane M., Okamasa K., Haraguchi T., and Hiraoka Y., "Meiotic proteins Bqt1 and Bqt2 tether telomeres to form the bouquet arrangement of chromosomes," *Cell* 125, 59-69, 2006.
- 5 Hiraoka Y. and Dernburg A.F., "The SUN Rises on Meiotic Chromosome Dynamics," *Developmental Cell*, 17(5): 598-605, 2009.
- 6 Ding D. Q., Yamamoto A., Haraguchi T., et al., "Dynamics of homologous chromosome pairing during meiotic prophase in fission yeast," *Dev Cell* 6, 329-341, 2004.
- 7 Shimada T., Yamashita A., and Yamamoto M., "The fission yeast meiotic regulator Mei2p forms a dot structure in the horse-tail nucleus in association with the sme2 locus on chromosome II," *Mol Biol Cell* 14, 2461-2469, 2003.
- 8 Ding D. Q., Okamasa K., Yamane M., Tsutsumi C., Haraguchi T., Yamamoto M., and Hiraoka Y., "Meiosis-specific non-coding RNA mediates robust pairing of homologous chromosomes in meiosis," *Science*, 336: 732-736, 2012.
- 9 Yamashita A., Shichino Y., Tanaka H., Hiriart E., Touat-Todeschini L., Vavasseur A., Ding D. Q., Hiraoka Y., Verdel A., and Yamamoto M., "Hexanucleotide motifs mediate recruitment of the RNA elimination machinery to silent meiotic genes," *Open Biology*, March 21; 2:120014, 2012.



丁 大橋 (テイ ダイキョウ)

未来 ICT 研究所バイオ ICT 研究室主任研究員
博士 (理学)
分子細胞生物学
ding@nict.go.jp