

氏 名	か とう ひろ あき 加 藤 太 陽
学位(専攻分野)	博 士 (生命科学)
学 位 記 番 号	生 博 第 75 号
学位授与の日付	平 成 18 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	生 命 科 学 研 究 科 高 次 生 命 科 学 専 攻
学位論文題目	新規ヘテロクロマチン関連因子としての RNA ポリメラーゼ II サブユニ ット Rpb2 の同定と解析

論文調査委員	(主 査) 教 授 杉 田 昌 彦	教 授 石 川 冬 木	教 授 眞 貝 洋 一
--------	----------------------	-------------	-------------

論 文 内 容 の 要 旨

高等真核生物で見られるヘテロクロマチンは、染色体ドメインレベルでの遺伝子抑制、有害な転移因子からのゲノムの保護、正確な染色体分配の保証に貢献する高次不活性クロマチン構造である。ヘテロクロマチン領域では、ヒストンが総じて低アセチル化状態にあり、ヒストン H3 の 9 番目のリジンがメチル化されており (H3-K9-Me)、このヒストン修飾を認識するクロモドメインタンパク質 HP1 (Heterochromatin protein 1) が局在している。

近年、分裂酵母をモデルとしたヘテロクロマチン研究において、RNAi (RNA interference) 経路によるヘテロクロマチン構築システムの存在が明らかとなり、このシステムの種を超えた普遍性が指摘されるようになった。このシステムにおける RNAi 経路では、non-coding RNA (ncRNA) の双方向転写によって一次二本鎖 RNA (dsRNA) が生産され、Dicer が dsRNA を 21 nt 程度の siRNA (small-interfering RNA) に変換し、siRNA を保持する RITS (RNA-induced transcriptional silencing) 複合体が RNA:RNA 相補鎖形成により ncRNA 転写領域にリクルートされて H3-K9-Me 修飾に貢献し、その修飾を認識する HP1 の局在によって不活性なクロマチンが確立される。更には RDRC (RNA-dependent RNA polymerase complex) が二次 dsRNA を提供する事による自己実施的循環系 (self-enforcing RNAi loop) によって維持される。

本研究において、遺伝学的な変異株スクリーニングを通して RNA ポリメラーゼ II (RNAPII) の必須サブユニットである Rpb2 の新規対立遺伝子 (*rpb2-m203*) を単離・同定した。*rpb2-m203* 変異はセントロメア周縁部に挿入された RNA-P II 依存的転写ユニットのヘテロクロマチン構造を崩壊させ、ncRNA の転写レベルに影響を与えずに siRNA プロセシングの欠陥を引き起こした。RNAPII はセントロメア周縁部の ncRNA 転写領域に存在し、*rpb2-m203* 変異によって RITS や RDRC のヘテロクロマチン局在が損なわれる事から、RNAPII が Rpb2 サブユニットを介して ncRNA の転写と siRNA プロセシングを共役させ、RNAi 依存的ヘテロクロマチン構築に貢献する事を強く示唆している。

また転写開始において転写因子と RNA ポリメラーゼを細胞内外の様々なシグナルに応じて仲介すると考えられるメディエータ複合体にも着目し解析をおこない、メディエータ複合体も RNAi 依存的ヘテロクロマチン形成に関与する可能性を示した。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

ヘテロクロマチンはセントロメアやテロメアなどの染色体機能構造を形成するだけでなく、ゲノム遺伝情報のエピジェネティックな発現制御にもかかわる重要なクロマチン高次構造である。その形成・維持の分子機構の解析が現在急速に進みつつある一方で未知な点が多い。RNAi システムは本来遺伝子発現の転写後抑制をおこなうと考えられていたが、最近、植物や分裂酵母において RNAi システムがヘテロクロマチン形成に関与し、転写抑制による遺伝子発現制御にも関与することが示され、注目されている。

申請者は本論文において分裂酵母をモデル系として用い、RNAi 依存的なセントロメアヘテロクロマチン形成に欠損を示す新規変異株のスクリーニングをおこなった。その結果 RNA ポリメラーゼ II の新規変異を単離同定した。その後の解析から、RNA ポリメラーゼ II がヘテロクロマチン領域の non-coding RNA の転写をおこなうことを示すと共に、単離した変異株では non-coding RNA の転写はおこるがその後の siRNA の合成が損なわれていることを示した。さらに、siRNA 合成やその後のヘテロクロマチン形成に必須の複合体のセントロメアヘテロクロマチン局在が、この変異株で損なわれていることを明確に示した。この結果は non-coding RNA の転写とその siRNA 合成の過程が共役していることを強く示唆する初めての知見であり、RNAi・クロマチン研究にとって重要なものである。また、申請者は転写開始において機能するメディエータ複合体もセントロメアヘテロクロマチン形成に関与する可能性を示した。その分子機構の詳細はまだ不明であるが、この結果は転写過程に関わる種々の因子がクロマチン高次構造の制御に関わることを示唆しており、今後の発展が期待できる。以上、申請者は困難な変異株のスクリーニング、原因遺伝子の同定を粘り強くおこなうことで、興味深い変異の単離に至り、その後の論理的かつ正確な解析により今後のクロマチン研究に大きく貢献する結果を得た。

以上より本論文は博士（生命科学）の学位論文として価値ある物と認めた。

また、平成18年1月24日論文公聴会を開催し、論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果合格と認めた。