

直鎖状二本鎖 DNA を発現する遺伝子の機能

Function of gene expressing linear double-stranded DNA

理化学研究所 飯田哲史

真核生物である出芽酵母は、単細胞でありながらヒトを含めた様々な真核細胞制御の研究モデルであり、細胞分裂寿命を指標として細胞老化の研究が盛んに行われている。出芽酵母の分裂寿命を長く保つ因子として知られる NAD 依存性ヒストン脱アセチル化酵素 Sir2 は、ゲノムの最も不安定な領域として知られるリボソーム RNA 遺伝子リピート(rDNA)のコピー数変動を抑えることでゲノムの安定性を維持し(参考文献 Iida, 2019)、分裂寿命の短縮を抑えている。一方で、*SIR2* 遺伝子破壊株では、異常なタンパク質の凝集体形成が起りやすくなることが観察されており(参考文献 Song, 2014)、Sir2 はゲノムの安定性維持の制御と、異常タンパク質の代謝の両方に重要な機能をもつと考えられてきた。これまでに我々は、rDNA コピー数制御の研究において、*SIR2* 遺伝子の発現は、rDNA のコピー数減少に伴い *SIR2* プロモーターに rDNA の転写因子が結合し転写レベルで抑制されることを見出している(参考文献 Iida, 2019)。本研究では、*SIR2* 遺伝子がどのように異なる細胞制御であるゲノムの安定性維持と異常タンパク質蓄積の抑制を行っているのかを明らかにするため解析を行った。

rDNA の制御と異常タンパク質の代謝制御に関連があるかを検討するために、*SIR2* プロモーター、*SIR2* 遺伝子コード領域の変異体を作成し、異常タンパク質の凝集体形成を観察した。異常タンパク質は、蛍光タンパク GFP をハンチントン舞踏病関連タンパク質 Htt に融合し、細胞質内で強制的に発現させた。その結果、*SIR2* 遺伝子のコード領域の欠損株と Sir2 を発現することが可能な *SIR2* プロモーター置換株で、異常タンパク質の凝集体形成が観察されたことから、異常タンパク質の凝集体形成の抑制には、*SIR2* プロモーター領域が必要であり、この領域に未知の遺伝子が存在することが示唆された。実際に異常タンパク質の凝集体形成の抑制に必要な領域は、*SIR2* プロモーター領域と *SIR2* 遺伝子コード領域の約半分、上流遺伝子のコード領域の一部であり、新たなタンパク質をコードする遺伝子や、ノンコーディング RNA は見いだされなかった。一方で、次世代シーケンサーを用いた解析から、この遺伝子領域と一致する染色体外 DNA が検出され、756 塩基対の直鎖状 DNA として細胞内に存在することを見出した。今回我々は、この DNA 断片を specDNA (short priared extra-chromosomal DNA) と名付け、解析を進めた。

一般に、DNA 損傷として認識される直鎖状二本鎖 DNA は、細胞内で安定に存在できない。したがって、specDNA はタンパク質と結合し保護されるなど、何らかの方法で存在している可能性が考えられる。そこで、specDNA を含む細胞抽出液を精製し、複合体を精製後質量分析により specDNA 相互作用因子遺伝子 *SDII* を同定した。*SDII* 遺伝子は、様々な細胞制御に関与する細胞増殖に必須なタンパク質をコードしていることから、現在我々は、specDNA-Sdi1 が DNA タンパク質複合体として異常タンパク質の凝集体形成を抑制しているモデルを考えている。

【参考文献】

- Iida T, Kobayashi T. "RNA Polymerase I Activators Count and Adjust Ribosomal RNA Gene Copy Number." *Mol Cell*. 2019 Feb 21;73(4):645-654.e13. doi: 10.1016/j.molcel.2018.11.029. PMID: 30612878
- Song J, et al. "Essential genetic interactors of SIR2 required for spatial sequestration and asymmetrical inheritance of protein aggregates." *PLoS Genet*. 2014 Jul 31;10(7):e1004539. doi: 10.1371/journal.pgen.1004539. PMID: 25079602