

体細胞におけるヘテロクロマチン領域記憶の

分子装置の同定と機構に関する研究

Identification and characterization of molecular memories determining heterochromatin regions in somatic cells

国立遺伝学研究所 齋藤都暁

ゲノムプロジェクトの成果から、真核生物ゲノムの膨大な領域(ヒトでは 45%)がトランスポゾンもしくはレトロトランスポゾンに占められることが分かった。レトロトランスポゾンはゲノム内を転移する能力を持つ寄生性 DNA 因子であるが、これはゲノムから排除されず、世代を越えて保持される。しかし、レトロトランスポゾンの転移は、生物にとって脅威となるため、その発現はヘテロクロマチン化などで抑制されている。レトロトランスポゾンは多いもので数十万コピー存在し、その配列は塩基置換によってバリエーションがある。従って、レトロトランスポゾンの発現抑制には、膨大な種類を認識し得る分子システムの存在が想定される。

ショウジョウバエのヘテロクロマチン領域の多くはレトロトランスポゾンやトランスポゾンに占められている。生殖細胞では PIWI サブファミリー蛋白質に結合する小分子 RNA (piRNA) がトランスポゾンの発現抑制シグナルとして機能する。一方、体細胞でもレトロトランスポゾンの発現は抑制状態にあり、細胞分裂を経ても抑制は維持される。しかし、体細胞では piRNA 及び Piwi ファミリータンパク質が発現しない。したがって、体細胞ではどのような分子がヘテロクロマチン領域を規定し、レトロトランスポゾンを抑制するのか未解明である。そこで本研究では、体細胞ヘテロクロマチンの形成・維持に重要な新規遺伝子の同定を目指した。その結果、新たに 2 つの新規レトロトランスポゾン抑制因子を同定した。1 つは CG14438(Candidate Gene 14438)遺伝子であり、多数の Zn-finger motif を有する巨大蛋白質をコードする。Crispr/Cas9 システムを用いてノックアウトハエを作製した結果、胚発生初期において致死性を示した。さらに培養細胞を駆使して、発現が上昇するトランスポゾン種を同定したところ、CG14438 はヘテロクロマチンタンパク質である HP1a のノックダウン細胞と非常に類似したトランスポゾンが脱抑制されることを見出した。以上の事実から CG14438 は HP1a と協調して働く因子ではないかと期待された。次に CG14438 を認識するマウスモノクローナル抗体の樹立を試みた。ELISA、Western Blot、を指標にスクリーニングした結果、目的とするモノクローナル抗体を得ることに成功した。この抗体を用いて、HP1a 免疫沈降物中に CG14438 が含まれるか否か検討した結果、HP1a 免疫沈降物中に CG14438 蛋白質を見出した。したがって、CG14438 は HP1a と物理的に相互作用し、トランスポゾンの発現を抑制する因子であると考えられた。CG14438 はショウジョウバエ属では保存されているが、他の昆虫や哺乳類では相同蛋白質が見つからない。一方、HP1a は種間で高度に保存された因子であることから、ショウジョウバエ以外の生物種では、CG14438 とアミノ酸配列は異なるものの機能的相同性を有する遺伝子が存在する可能性があり、今後の研究が期待される。

【参考文献】

- Czech B, Preall JB, McGinn J, Hannon GJ: A transcriptome-wide RNAi screen in the *Drosophila* ovary reveals factors of the germline piRNA pathway. *Mol. Cell*, 50, 749-761 (2013).
- Iwasaki YW, Murano K, Ishizu H, Shibuya A, Iyoda Y, Siomi MC, Siomi H, Saito K: Piwi Modulates Chromatin Accessibility by Regulating Multiple Factors Including Histone H1 to Repress Transposons. *Mol. Cell*, 63, 408-419 (2016).