



DNA 配列間の情報交換により品質を管理する機構の発見

1. 発表者：

堀 優太郎（東京大学定量生命科学研究所 ゲノム再生研究分野・助教）
嶋本 颯（山陽小野田市立山口東京理科大学薬学部 再生医療学分野・教授）
小林 武彦（東京大学定量生命科学研究所 ゲノム再生研究分野・教授）

2. 発表のポイント：

- ◆長鎖 DNA 解析技術（注1）を用いて、最大の繰り返し遺伝子であるリボソーム RNA 遺伝子（注2）の全体像を初めて明らかにしました。
- ◆これまでの報告とは異なり、リボソーム RNA 遺伝子は綺麗に直列に並んでいました。
- ◆リボソーム RNA 遺伝子には、周りとの情報の交換により配列を均一化する品質管理機構があることが判りました。
- ◆ゲノムの不安定化（注3）によって引き起こされるがんや老化（注4）の研究発展への寄与が期待されます。

3. 発表概要：

ゲノムとはその生物の持つ全遺伝情報であり、DNA 配列として細胞に収納されています。ヒトのゲノムは 2003 年に解読されましたが、短い配列（数十～数千塩基）を繋ぎ合わせて全体を組み立てる方法を用いたため、ゲノムの半分近くを占める反復配列（注5）の領域の構造を正確に決めることはできませんでした。

近年英国のオックスフォード・ナノポア社や米国の PacBio 社が、連続した長い配列を解読可能な装置を開発しました。これらの解析装置では、数十～数百キロ塩基の DNA 配列を解読することができるため、これまで不可能だった数千塩基（数 kb）以上の繰り返し配列の解析が可能になりました。

この技術を用い、東京大学定量生命科学研究所の堀優太郎助教と小林武彦教授は、山陽小野田市立山口東京理科大学薬学部の嶋本颯教授との共同研究で、ゲノム中で最大の反復遺伝子であるリボソーム RNA 遺伝子（200~700 コピー、rDNA）の全体構造を解析しました。その結果、これまでの rDNA の約 3 割は異常な構造を持っているという定説を覆し、99.8%は規則正しい直列反復構造（注6）をとっていることを解明しました。しかも近接するコピーほどその構造やメチル化修飾パターン（注7）が似ていること、また日本人に共通した特徴的な配列も発見しました。さらには、寿命が短くなる遺伝病の細胞では、構造変化の割合が増えていることもわかりました。

以上の発見から rDNA には、配列間の情報の交換により均一化する品質管理機構が存在することがわかりました。本成果は、ゲノムの異常で引き起こされる老化やがん化研究の基礎研究として、重要だと考えられます。

4. 発表内容：

ゲノムとはその生物の持つ遺伝情報全体であり、DNA の並び順、つまり配列情報として細胞内の核に収納されています。ヒトのゲノムプロジェクトは 2003 年に終了し、約 30 億塩基対が解読されました。しかし実際には、タンパク質をコードする遺伝子の配列はほぼ決まりましたが、ゲノムの 98%を占める非コード領域と言われる部分は、まだ不正確なところが多い

ままです。というのは、これまで用いられてきた配列解析の方法は、ショートリード法と呼ばれる短い配列（数十～数百塩基）を繋ぎ合わせて全体を組み立てるやり方で、これではゲノムの半分近くを占める反復した領域の解読が難しいためです。

近年英国のオックスフォード・ナノポア社や米国の PacBio 社が、より長い連続した DNA 配列を一気に解読するロングリード解析技術を開発しました。ロングリード解析装置では、数十～数百 kb の DNA 配列を解読することができ、これまで不可能だった数 kb 以上の繰り返し配列の解析が可能になりました。

研究グループはこのロングリード解析技術を用い、ゲノム中で最大の反復遺伝子であるリボソーム RNA 遺伝子の全体構造を明らかにしました。

ヒトのリボソーム RNA 遺伝子 (rDNA) は、5つの染色体（注8）上に細胞あたり合計 200~700 コピーが直列の反復構造をとって存在します（図）。rDNA はコピー数の変動が起こりやすく、老化やがん化に伴うゲノムの不安定化を検出するのに適した領域として注目されています。rDNA 1つの反復単位は 45 kb で、これまでのショートリード法ではその構造を解析することはできませんでした。唯一ファイバーフィッシュ (Fiber FISH、注9) 法というスライドガラス上に DNA 分子を引き伸ばして固定し、調べたい配列に色をつける方法で、3割程度の rDNA コピーがひっくり返っているなどの異常な構造をもつという報告がありました（2005年）。以来その結果が定説となっていました。

今回、研究グループはナノポア社の長鎖配列解析装置を用いて、リボソーム RNA 遺伝子繰り返し領域を解読し、全体像を捉えることに成功しました。その結果、これまでの定説であった 3割程度の異常構造は検出されず、99.8%は規則正しい反復構造をとっていることが判明しました。つまりほぼ全てが、綺麗に直列に並んでいます。また近傍のコピー同士ほどその構造が似ていることもわかりました。このことは、rDNA が全てのコピーを均一に保つ品質保持機構を有していることを示唆しています。さらに rDNA コピー間の非コード領域に、日本人に共通して現れる配列上の特徴があることも発見しました。

ナノポア社の配列解析装置を用いて転写の活性化状態の指標となるメチル化修飾も調べたところ、非コード領域については全て、コード領域については約半分がメチル化されている、つまり転写されていないことがわかりました。興味深いことに総コピー数とは無関係に転写されているコピー数は変化しないこともわかりました。

最後に、寿命が短くなる遺伝病（ワーナーおよびブルーム症候群）（注10）の細胞でも同様の解析を行なったところ、構造の変化の割合が約 10 倍に増えていることもわかりました。

今回の発見から rDNA には、配列間の情報の交換により均一化する品質管理機構が存在することがわかり、それがうまく働かないとゲノムに異常が生じ、老化やがん化の原因となる可能性が示唆されました。

5. 発表雑誌：

雑誌名：「Genome Research」（オンライン速報版：8月18日）

論文タイトル：The human ribosomal RNA gene is composed of highly homogenized tandem clusters

著者： Yutaro Hori, Akira Shimamoto and Takehiko Kobayashi

DOI 番号：10.1101/gr.275838.121

URL： <https://doi.org/10.1101/gr.275838.121>

6. 問い合わせ先：

東京大学定量生命科学研究所 ゲノム再生研究分野
教授 小林 武彦（こばやし たけひこ）
TEL: 090-8457-1168, FAX: 03-5841-8472
E-mail: tako2015@iqb.u-tokyo.ac.jp

7. 用語解説：

（注1）長鎖 DNA 解析技術：以前は短い DNA（注1 1）配列をたくさん解読し、それらをコンピュータでつなげる方法が一般的だった。長鎖 DNA 解析技術では、長い DNA を連続して解読する技術であり、反復配列などの解読が可能となり近年注目を集めている。

（注2）リボソーム RNA 遺伝子：リボソーム（注1 2）のタンパク質合成反応（翻訳）の中心を担う RNA 分子をコードする遺伝子。リボソーム RNA は、細胞の中の最多の RNA 分子であり、その遺伝子も1つでは不足に、百個以上が染色体上に並んで存在する。

（注3）ゲノムの不安定化：DNA の配列が分裂に伴い変化すること。

（注4）がんや老化：ともにゲノムの変化が原因となり引き起こされる。

（注5）反復配列：繰り返し配列。短いものでは3塩基対が繰り返すものから、長いものでは45キロ塩基対が繰り返す rDNA までさまざまな反復配列がある。レトロトランスポゾン（SINE、LINE）と呼ばれる反復配列は、ヒトゲノムに百万個コピー以上存在する。

（注6）直列反復構造：遺伝子が染色体上で同じ方向を向いて並んでいる構造。タンデムリピート構造とも呼ばれる

（注7）メチル化修飾パターン：転写の抑制されている領域では、DNA の CG（シトシンーグアニン）配列の C（シトシン）がメチル化されていることが多い。

（注8）染色体：遺伝情報の発現と伝達を担う生体物質で、真核細胞では紐状の構造を持ち、多くの遺伝子を含む。DNA とそれに結合するタンパク質からなる。

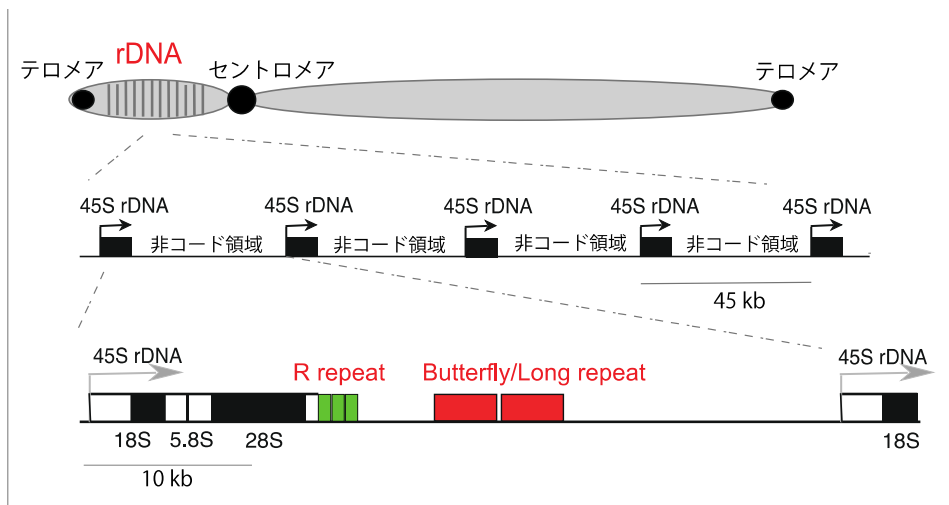
（注9）ファイバーフィッシュ（Fiber FISH）法：スライドガラス上に DNA 分子を引き伸ばして固定し、調べたい配列に結合する DNA に蛍光色素などをつけて顕微鏡下で観察する方法。例えば rDNA の前半を赤、後半を緑に発色するように設定すると、DNA ファイバー上の赤—緑の点の並び方で、遺伝子が直列にならんでいるのか、ひっくり返っているのかがわかる。ただ、DNA ファイバーの1本1本を綺麗にスライドガラスに貼り付けるのは難しい。

（注10）ワーナーおよびブルーム症候群：ともに潜性遺伝病である早期老化症。原因遺伝子は大腸菌の RecQ と相同性のある DNA 修復に関わる遺伝子。思春期ころから急速に老化が進み、寿命は50歳前後。

(注1 1) DNA：細胞の中に含まれる紐状の物質で、4種類の異なる塩基が並んでいる。この塩基の並び順によって、遺伝情報を司る遺伝子がコードされている。

(注1 2) リボソーム：遺伝情報を読み取ってタンパク質を合成する粒子。全ての生物が持つ、もっとも重要で基本的な装置の1つ。約80種類のリボソームタンパク質と反応の中心を担うリボソームRNAからなる。

8. 添付資料



図：ヒトのリボソーム RNA 遺伝子の構造

ヒトのリボソーム RNA 遺伝子は、アクロセントリック染色体（13、14、15、21、22 番染色体）と呼ばれる短腕（図の左側）が極端に短い染色体にあります。その短腕に染色体あたり数十コピーの rDNA が直列に並んでいます。1 コピーは約 45 キロ塩基対 (kb) あり、その内約 10 kb はリボソーム RNA をコードしている領域 (45S rDNA)、残りの約 35 kb が非コード領域です。非コード領域には R や Butterfly/Long リピートと呼ばれる反復配列があり、それらにバリエーション（配列の多様性）が集中して存在しています。