

セントロメアは各染色体に1つずつ備わる領域で、一般的にセントロメア特異的なヒストン H3 タンパク質 CENP-A によってエピジェネティックに規定される。体細胞分裂と減数分裂のどちらにおいても正確な染色体分離を行うために必要不可欠な役割を担っているため、細胞分裂を経ても安定に維持される必要がある。しかし進化の過程では染色体再編成を通してセントロメア的位置が移動して定着した例も知られており、変化しやすい領域であると考えられる。このようにセントロメアの安定的な継承についてはまだ十分に理解されているとは言えない。

私たちの研究室では、分裂酵母の1番染色体のセントロメアがテロメア近傍に移動した株（ネオセントロメア株）を獲得している。先行研究ではネオセントロメアが正常に減数分裂を行えることが示された。それを受けて本研究ではネオセントロメア株を用いて減数分裂におけるセントロメアの安定性の研究を行った。具体的には、セントロメア的位置が異なる細胞の間で減数分裂と胞子形成を起こさせ、そこで生じた二動原体染色体におけるセントロメアの安定性を比較した。二動原体細胞のみを特異的に選択する遺伝的アッセイを用いて、生存する二動原体細胞を多数取得した。これらは致死性を示す二動原体細胞がどちらか一方のセントロメアの不活性化によって生存可能となったと考えられる。これを利用し、二動原体染色体においてどちらのセントロメアが不安定化して継承されなかったのかを蛍光顕微鏡観察で解析した。その結果、左腕のテロメア近傍領域に形成されたネオセントロメア (*neo1L*) は本来のセントロメア (*cen1*) や右腕のネオセントロメア (*neo1R*) に比べて継承されにくいことが明らかになった。各セントロメア周辺のクロマチン構造には違いがあり、*neo1L* のみヘテロクロマチンと隣接していないことが分かっている。ヘテロクロマチンの隣接の有無がセントロメアの安定性に関与するのかを調べるために、ヘテロクロマチン変異株を作製して同様の蛍光顕微鏡観察を行った。その結果、ヘテロクロマチンの隣接を失った *cen1* と *neo1R* は安定性が下がることが示された。このことからヘテロクロマチンがセントロメアを安定化することが示唆された。

不安定化したセントロメア領域について調べるためにクロマチン免疫沈降実験を用いて CENP-A/Cnp1 のクロマチン結合を解析した。維持されたセントロメア領域では内在のセントロメアと同程度の CENP-A/Cnp1 結合量であったが、維持されなかったセントロメアでは CENP-A/Cnp1 の十分な量の結合が見られなかった。これは二動原体染色体において片方のセントロメアがエピジェネティックに不活性化しているということが示唆する。そこでジェネティックな変化がないことを確認するために、PCR で増幅したネオセントロメア領域の DNA 断片を制限酵素で消化した。バンドパターンを比較した結果、不安定化しやすい *neo1L* は減数分裂の経ても DNA 配列に変化がないことが示された。

以上のことから、減数分裂において生じた二動原体染色体では CENP-A/Cnp1 ヌクレオソームがヒストン H3 ヌクレオソームに変化することによってセントロメアがエピジェネティックに不活性化することが明らかになった。このときにセントロメアに隣接するヘテロクロマチンは CENP-A/Cnp1 の脱離を抑制する働きを持つことが示唆された。