

日本遺伝学会第79回大会 Best Papers 賞



I 慢性的な紫外線環境下における DNA 複製と損傷修復の連携機構

○菱田 卓、久保田佳乃

(大阪大学 微生物病研究所)



II 突然変異マウスを用いたケラチン・ヘテロダイマーの遺伝学的解析

○田中成和¹、三浦郁生²、吉木 淳³、加藤依子¹、横山晴香²、篠木晶子²、榎屋啓志²、若菜茂晴²、田村 勝¹、城石俊彦^{1,2}

(¹国立遺伝学研究所 哺乳動物遺伝研究室、²RIKEN GSC、³RIKEN BRC)



III 分裂酵母 Swi5-Sfr1 複合体による Rhp51 依存的 DNA 鎖交換反応の活性化機構の解析

○村山泰斗¹、黒川裕美子¹、春田奈美²、岩崎博史¹

(¹横浜市立大学大学院 国際総合科学研究科、²大阪大学 微生物病研究所)



IV 染色体複製開始点の2重鎖 DNA 開裂を制御する DnaA 新奇機能構造の解析

○尾崎省吾¹、川上広宣^{1,5}、中村賢太¹、藤川乃り映²、香川 亘²、横山茂之^{2,3}、胡桃坂仁志^{2,4}、片山 勉¹

(¹九州大学大学院 薬学府 分子生物薬学分野、²理化学研究所 ゲノム科学総合研究センター、³東京大学大学院 理学系研究科 生物化学専攻、⁴早稲田大学先進理工学部 電気 情報生命工学科、⁵現 Cold Spring Harbor 研究所)



V ヒトゲノム中での遺伝子発現パターンと淘汰圧との関係について

○長田直樹

(独立行政法人医薬基盤研究所 生物資源研究部)



VI ショウジョウバエの眼の形成における TDF の機能解析

○劉 慶信¹、池尾一穂¹、広海 健²、広瀬 進³、五條堀 孝¹

(国立遺伝学研究所 ¹遺伝情報分析研究室、²発生遺伝研究部門、³形質遺伝研究部門)



VII 大腸菌 *in vitro* DNA 複製系を用いた DNA ポリメラーゼスイッチの解析：Pol IV による Pol III 制御機構

○古郡麻子¹、片山 勉²、Myron F. Goodman³、真木寿治¹

(¹奈良先端科学技術大学院大学 バイオサイエンス研究科、²九州大学大学院 薬学府 分子生物薬学分野、³University of Southern California)



VIII 酸化塩基、8-オキシグアニンのゲノム蓄積は染色体組換えを促進する

○大野みずき、作見邦彦、中別府雄作

(九州大学生体防御研究所脳機能制御学分野)



IX アルキル化損傷細胞にアポトーシスを誘導する新規遺伝子の同定

○日高真純¹、小森加代子²、高木康光³、中津可道¹、續 輝久¹、関口睦夫³

(¹九州大学 院医 基礎放射線医学、²徳島文理大学 健康科学研、³福岡歯科大学 学術フロンティア)



X G タンパクを介した温度受容メカニズムと温度情報伝達の機能的神経回路

○久原 篤、奥村将年、森 郁恵

(名古屋大学 大学院理学研究科 生命理学専攻)



XI イネのメリステムの制御に関わる *fon2* サプレッサー遺伝子の機能解析

○寿崎拓哉、平野博之

(東京大学 大学院理学系研究科 生物科学専攻)



XII ウシグソヒトヨタケにおける重力屈性欠損突然変異体 B199 株の分子遺伝学的解析

○上田菜々恵、藤田剛嗣、中堀 清、鎌田 堯

(岡山大学大学院 自然科学研究科 生物科学専攻)



XIII 体細胞分裂の染色体接着を制御する新規カスケードの発見

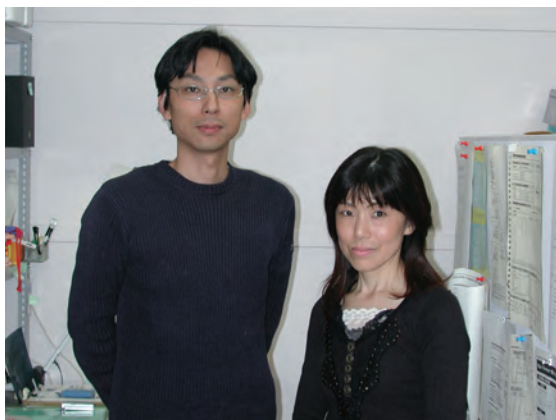
○松永幸大、高田英昭、森本晃弘、馬 楠、栗原大輔、真庭-大野理香、内山 進、福井希一

(大阪大学大学院 工学研究科 生命先端工学専攻)



慢性的な紫外線環境下における DNA 複製と損傷修復の連携機構

菱田 卓 大阪大学
ひしだ すくる 微生物病研究所



菱田 卓 久保田佳乃

紫外線は、DNA 塩基損傷を引き起こす主要な環境要因であり、突然変異などのゲノム不安定化の原因となることが知られています。そのため、生物はこれらの塩基損傷を特異的に修復できるヌクレオチド除去修復機構（NER）を進化の過程で獲得してきています。一方で、これらの塩基損傷は転写や複製の阻害を引き起こすことから、これらの問題に対処する為に、前者に対しては転写と共役した NER が存在し、後者に対しては DNA 損傷トレランスと呼ばれる経路が存在します。DNA 損傷トレランス経路は、ユビキチン化修飾酵素群から構成されており、DNA ポリメラーゼの伸長因子である PCNA のモノ及びポリユビキチン化修飾に関与しています。このモノ及びポリユビキチン化修飾は、それぞれ、損傷乗り越え型 DNA 複製及びテンプレートスイッチ機構を活性化することで DNA 複製の再開に機能しています（図 1）。このように、DNA 損傷トレランス経路は、塩基損傷の直接的な修復をすることなく損傷部位のバイパス機能によって複製の再開に関わっていますが、このような機構がいつどのような時に必要であるのかという生物学的意義についてはよくわかっていませんでした。今回、私たちは、出芽酵母をモデル生物として、自然環境で問題になるような低レベルの紫外線を慢性的に細胞に照射できるような培養装置を作成し、このよ

うな紫外線ストレス環境下で増殖する細胞の損傷応答機構を詳細に解析しました。その結果、野生型及び NER 欠失株の増殖阻害をほとんど起こさない低紫外線環境下での培養条件において、DNA 損傷トレランス経路の欠失株は完全に増殖が阻害されることを見いだしました。これまでの過剰な紫外線を短時間照射する実験においては、直接的に塩基損傷の修復を行う NER の欠失株が最も高感受性を示すことが知られており、今回の実験条件（慢性低紫外線環境）下での結果は、これまでの紫外線に関する研究結果とは大きく異なった損傷応答の機構が存在することを示しています。さらに、今回の結果は、慢性低紫外線環境下においては、NER の欠損（損傷の蓄積）よりも、むしろ損傷トレランスの欠損（複製阻害）が細胞増殖を阻害する主要な要因となりうることを示唆しています。近年、様々な地球環境問題が表面化してきており、フロン等に起因するオゾン層の破壊に伴って生じる有害紫外線の増加は、現代及び将来の地球環境が抱える大きな問題の一つとなっています。今後、今回作製した培養装置を用いて、慢性・低紫外線環境における細胞の損傷応答機構を詳細に解析していくことで、有害紫外線量の増大が及ぼす生物学的影響を分子レベルで明らかにしていきたいと考えています。

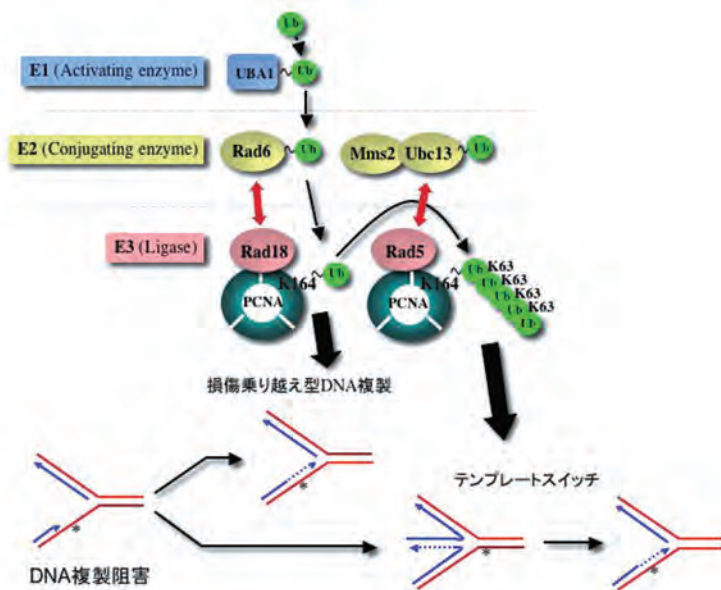


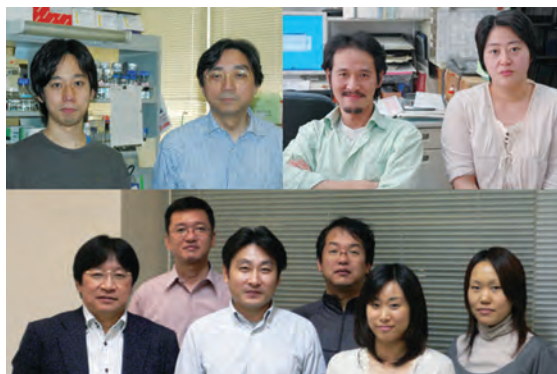
図 1 DNA 損傷トレランス経路

PCNA のモノ及びポリユビキチン化修飾を介した DNA 損傷トレランス経路のマシナリーを示す。DNA ポリメラーゼの伸長反応の促進因子である PCNA の K164 が Rad6-Rad18 によってモノユビキチン化されると、損傷乗り越え型 DNA ポリメラーゼを損傷部位へリクルートし、それらが損傷部位を乗り越えて DNA 複製を行う。一方、Rad6-Rad18 に続いて Mms2-Ubc13 と Rad5 が作用すると PCNA のポリユビキチン化が起こる。このポリユビキチン化 PCNA は、Rad5 によるテンプレートスイッチ反応を促進すると考えられているが詳細は未だ不明である。赤矢印はタンパク質間相互作用を示し、*は DNA 損傷を示す。



突然変異マウスを用いたケラチン・ヘテロダイマーの遺伝学的解析

田中 成和 国立遺伝学研究所
たなか しげかず 哺乳動物遺伝研究室



写真左上 左から：田中成和、城石俊彦、
写真右上 左から：田村 勝、加藤依子
写真下 後列左から：吉木 淳、榎屋啓志
前列左から：若菜茂晴、三浦郁生、横山晴香、篠木晶子

ケラチンは、I 型（酸性）とII 型（塩基性）ケラチンがヘテロダイマーを形成し、細胞骨格に関与するだけでなく、シグナル伝達の足場となり細胞増殖や細胞分化に関わり、その機能は多岐にわたっている。これまでに50以上のケラチン遺伝子が同定されているが、生体内に於いて、どのI 型ケラチンとII 型ケラチンがダイマーを形成するかは、最大の関心事の一つであるにも関わらず、殆ど明らかにされていないのが現状である。

我々は、この問題に「表現型から遺伝子」に迫る Forward Genetics の手法を用いて取り組んだ。即ち、I 型ケラチン遺伝子クラスターが存在する11番染色体と、II 型ケラチン遺伝子クラスターが存在する15番染色体上にマップされている類似した表現型を持つマウス突然変異体に着目し、解析を行なった。15番染色体上の巻き毛を示す変異マウス Caracul (*Ca*) は、II 型内毛根鞘ケラチン *Krt71* に変異を持つことが、吉川らによって報告されていた（文献1）。一方、11番染色体上にも、巻き毛を示す変異マウス Rex (*Re*) が70年も前に報告されていたが、未だ原因遺伝子は同定されていなかった（図1A、文献2）。*Re* が *Ca* 同様に内毛根鞘に異常を持つ事（図1B-C）、連鎖解析から

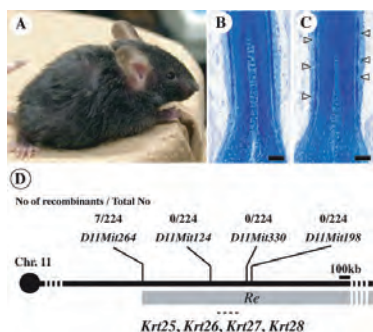


図1 *Re* の表現型とマッピング

A: *Re* は、体毛がウェーブしている表現型を示す。B-C: ひげ毛包のトルイジンブルー染色（B: 野生型、C: *Re* ヘテロ）。*Re* では、内毛根鞘（青く濃染された層）が断続的になっている（矢頭）。バーは25 μ m。D: *Re* は、4つのI 型内毛根鞘ケラチン遺伝子と強く連鎖している。マーカーはゲノム情報を基にした物理距離で示した。

I 型内毛根鞘ケラチン遺伝子と強く連鎖している事（図1D）から、*Re* は、I 型内毛根鞘ケラチン遺伝子に変異を有すると予想した。また、*Re* の対立遺伝子座とされる *Re^{acc}* とENU ミュータジェネシスによって作出され、*Re* と同様な表現型を示す *M100573* 変異についても解析を行った。

これら変異体のI 型内毛根鞘ケラチン遺伝子 *Krt25*、*Krt26*、*Krt27*、*Krt28* の塩基配列の決定を行った結果、予想通りI 型内毛根鞘ケラチン遺伝子に変異がある事が分かった。*Re* と *M100573* は *Krt25* に点突然変異が存在したが、*Re* の対立遺伝子座とされていた *Re^{acc}* は、面白いことに *Krt25* ではなく、*Krt27* ゲノム領域の一部が欠損していることが判明した。これらの変異位置は、*Re*、*M100573*、*Re^{acc}* の全てに於いてヘテロダイマーの形成に重要なモチーフに存在していた（図2）。さらに、*K71* 抗体を用いて免疫組織学的解析を行った結果、ケラチンフィラメントの配向異常が認められた（図3）。以上の結果から、生体で重要な *K71* のパートナーは、*K25* と *K27* であると考えられる。

Re や *Re^{acc}* の様にラフマッピングのデータと表現型類似性から対立遺伝子座とされている原因遺伝子未同定なマウス変異体が、まだ数多く存在している。これらの中には生命現象を紐解く宝物がまだまだ隠されていると思われる、そこから重要な生物学的意義が見出される事を私は期待している。

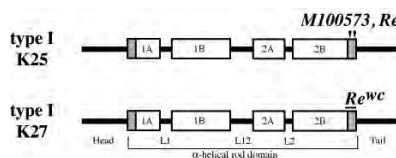


図2 ケラチン蛋白の二次構造と変異部位

ケラチンは4つのヘリックス領域（白）と、非ヘリックス領域（黒線）からなる。ヘリックス領域のN末、C末は、中間径フィラメント間で保存性の高いモチーフを持つ（灰）。*Re* と *M100573* は *K25* の、*Re^{acc}* は *K27* の α -helix termination motif（C 末の灰色部分）に、それぞれ変異が存在する。*Re*、*M100573* の矢頭はミスセンス変異、*Re^{acc}* のバーは欠損領域を示す。

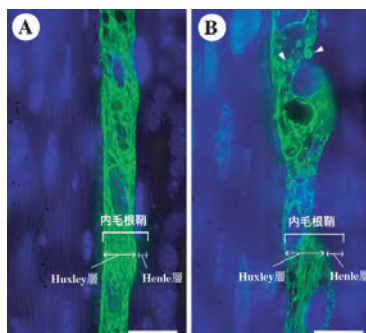


図3 内毛根鞘におけるII 型ケラチン *K71* 蛋白の局在

A: 野生型、B: *Re* ヘテロ。*Re* において、内毛根鞘の層の一つ Huxley 層のケラチンフィラメントの配向異常が認められた（矢頭）。バーは10 μ m。

文献

- (1) Y. Kikkawa et al. (2003) Genetics 165, 721-733.
- (2) F.A.E. Crew and C. Auerbach (1939) J. Genet. 38, 341-344.
- (3) S. Tanaka et al. (2007) Genomics 90, 703-711.



分裂酵母 Swi5-Sfr1 複合体による Rhp51 依存的 DNA 鎖交換反応の活性化機構の解析

村山 泰斗 横浜市立大学大学院
むらやま やすと 国際総合科学研究科



(左から) 岩崎博史、村山泰斗、黒川裕美子、春田奈美

遺伝的な DNA 相同組換えにおいて、コアとなるステップの素反応は、DNA 鎖交換反応です。この反応を直接触媒するのが RecA ファミリーに属するリコンビナーゼであり、真核生物では Rad51 と Dmc1 の 2 つが知られています。リコンビナーゼは単鎖 DNA 上にフィラメント構造を形成して、相同な 2 本鎖 DNA との間で鎖交換を行います。

私たちは、分裂酵母をモデルに相同組換えの機構について研究を行っており、その過程で見つけたのが Swi5-Sfr1 複合体です。遺伝学的解析からこの複合体が Rhp51 (分裂

酵母の Rad51) 依存的な組換え修復経路で働いていることを明らかにしました。さらに精製タンパク質の解析から、この複合体には Rhp51 による DNA 鎖交換反応を促進する活性があることがわかりました。すなわち、図 1 でいうと、ちょうど D-loop と呼ばれる中間体の形成のステップで働いていると考えられます。

一般的な相同組換えのモデルでは、この D-loop 形成の後に相同組換えの重要な中間体の一つであるホリデイ構造が形成されます。この構造は 2 組の相同な 2 本鎖 DNA が相補鎖を交換した DNA 高次構造で、交差を伴う組換え反応においては、必須の中間体であると考えられています。バクテリア RecA は試験管内鎖交換反応によってホリデイ構造の形成を行う活性があることが示されています。

私たちは Rhp51 による鎖交換反応について生化学的に詳しく検討しました。解析結果は、現在学術雑誌に投稿中です。雑誌の規程に基づき、新規性に抵触することことから、この拙稿では詳細を述べる訳にはいきませんが、今回、Swi5-Sfr1 の解析を通じて Rhp51 の新たな機能を発見することができました。この新しい Rhp51 活性には、Swi5-Sfr1 の寄与はあまり大きくありません。そもそも、Swi5-Sfr1 の Rhp51 活性に対する効果を解析していたので、今回の発見は、そういう意味では皮肉にも逆説的ではあります。一つずつきちんと解析していくこと、そして、この積み重ねが予期せぬ大きな発見に繋がるということを、今回レッスンとして学びました。今後も、リコンビナーゼによる鎖交換のメカニズムをさらに詳細に解析して行きたいと考えています。今回、このような栄誉を与えていただき、大変感謝しております。

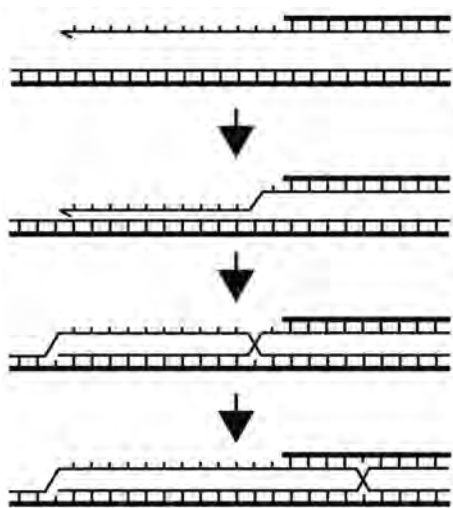


図 1 相同組換えにおける DNA 鎖交換のステップのモデル。単鎖-2 本鎖間での鎖交換からスタートし、2 本鎖-2 本鎖の鎖交換に移行することによってホリデイ構造ができる。



染色体複製開始点の2重鎖 DNA 開裂を制御する DnaA 新奇機能構造の解析

尾崎 省吾
おざき

しょうご

九州大学大学院 薬学府
分子生物薬学分野

ゲノム複製のためには、イニシエーターが複製開始点で複合体（開始複合体）を形成した後、開始点の2重鎖DNAを開裂しなければならない。これが引き金となり、複製マシン装着から新生鎖合成に至る一連の反応が連続して起こる。我々は開始複合体の機能構造解明をめざし、大腸菌ゲノム複製のイニシエーターである DnaA が形成する開始複合体を研究している。

大腸菌ゲノム複製開始は複製開始点 *oriC* と ATP-DnaA とで形成される高次複合体中で起こる。ADP-DnaA と異なり、ATP-DnaA は DnaA-*oriC* 複合体の構造変化を促す。これにより *oriC* の一部（DNA unwinding element [DUE]）が開裂し、ゲノム複製が開始される（図1）。DnaA は AAA⁺ 蛋白質ファミリーに属する。近年の機能構造解析により、「AAA⁺ 蛋白質が5-7量体からなるリング様複合体を形成する」という共通特性が見えてきた。そして、これら AAA⁺ 蛋白質リング中央の孔（ポア）の内側に存在するアミノ酸残基の機能的な重要性が示唆されている。我々は DnaA においても同様の機能構造をもつ複合体が形成されるのではないかと仮定し検証した。我々はまず超好熱性真正細菌 *T. maritima* 由来 DnaA ホモログ（*tmaDnaA*）の AAA⁺ ドメインの結晶構造を解明した。結晶中で AAA⁺ ドメインは単量体であったが、この構造を使って DnaA 6量体モデルを構築し、大腸菌 DnaA のポア残基を複数予測した。アラニン変異体解析の結果、予想通り、推定したポア残基のいくつかは DnaA の細胞内機能に重要であることがわかった。精製した DnaA 変異体は2重鎖開裂能を特異的に欠損していた。これらの変異体の ATP/DNA 結合能、及び *oriC* 上での ATP-DnaA 特異的な高次複合体形成能は野生型 DnaA と同程度に保持していた。

さらに我々は、*oriC* 上で複合体を形成した ATP-DnaA が1本鎖の DUE と特異的に相互作用することを発見した。この反応において上述のポア変異体は不活性だった。これらの結果は、*oriC* 上で複合体形成した ATP-DnaA がポアを介して DUE と相互作用することを示唆する（図2）。同様の結果は *tmaDnaA* の解析からも得られており、我々の提唱するメカニズムがバクテリア間で保存されたものであることを示唆している。

さらに興味深いことに今回報告したアミノ酸残基はバクテリアの DnaA ホモログ間だけでなく、真核生物のゲノム複製開始に



上段左から、片山 勉、尾崎省吾、中村賢太、川上広宣
下段左から、藤川乃り映、香川 亘、横山茂之、胡桃坂仁志

関わる AAA⁺ 蛋白質の ORC や Cdc6 などにおいても保存されている。よってこれらの蛋白質においても DnaA と類似の機能構造をもつ複合体が形成される可能性が考えられる。

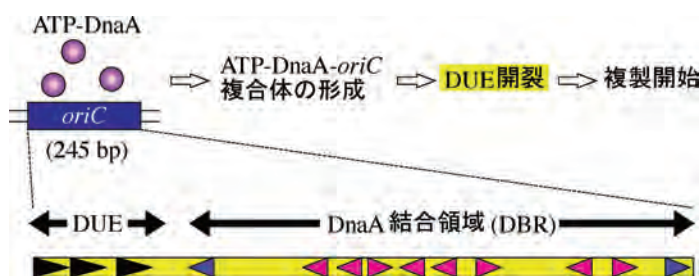


図1 大腸菌ゲノム複製開始モデル

oriC 内には親和性の異なる複数の DnaA 結合配列（ダークグレー、高親和性；ライトグレー、低親和性）が存在する領域（DBR）がある。DBR に集合した ATP-DnaA は特異的な複合体形成の後、DUE を開裂する。これが引き金となり、ゲノム複製が開始される。

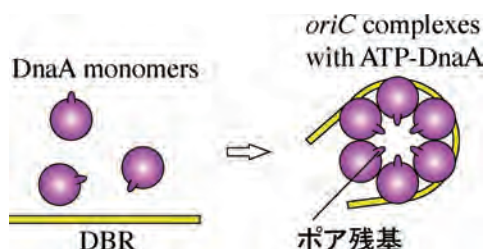


図2 DnaA ポアを介した DUE 相互作用のモデル

oriC 内の DBR 上で複合体形成した DnaA はポアをつくる。するとポア内の特異的な残基を介して DnaA が1本鎖 DUE と結合できるようになる。



ヒトゲノム中での遺伝子発現パターンと淘汰圧との関係について

長田 直樹
おさだ なおき

独立行政法人医薬基盤研究所
生物資源研究部

現代の分子進化学・集団遺伝学の基本的枠組みでは、ゲノムに突然変異が起こり、それが遺伝的浮動や自然選択により固定したり消滅したりする過程によって進化を説明します。自然選択の対象となるのは遺伝子型ですが、実際には表現型を介して選択が働きますから、遺伝子型から表現型への対応関係（複雑な遺伝子のネットワーク）が解明されない限りは突然変異にかかる淘汰圧というものは厳密には理解できないことになります。ヒトの遺伝子型にかかる淘汰圧を推定することは疾患の原因の解明や予防医学にも役立つでしょう。そこで私は遺伝子の発現パターンに注目して突然変異にかかる淘汰圧との関係を推定しました。遺伝子発現は遺伝子型と表現型をつなぐ橋になると考えられ、内的表現型（endophenotype）とも呼ばれます。ヒト全遺伝子の18組織でのマイクロアレイ発現データ、多型データ、種間差データ（ヒトゲノムとチンパンジーゲノムとの比較による）を公的なデータベースより抽出しました。遺伝子を発現組織ごとにクラス分けし、それぞれの組織で種間差と種内差における非同義置換率/同義置換率— Ka/Ks (divergence) と Ka/Ks (polymorphism)—を算出しプロットしました（図1）。

図1からは三つのことがわかります。1）アミノ酸レベルで種間差の大きい遺伝子グループはアミノ酸の多型も多い—これは遺伝子発現によるグループの進化速度の違いが主に負の淘汰の強さによって決定されていることを示します。2）すべての組織で、 Ka/Ks (polymorphism) が Ka/Ks (divergence) を上回っている—これは集団中で除かれる「やや有害な突然変異（slightly deleterious mutations）」がヒトゲノム中に普遍的に存在していることを示します。3）集団中から除かれるアミノ酸変異（図1の灰色の領域）が Ka/Ks (divergence) の増加に従って増えていく—これはやや有害な突然変異が遺伝子の機能的制約が緩むほど割合として多くなることを示唆しています。最後の観察結果は一見すると一般的な予測に矛盾していますが、やや有害な突然変異を持つ割合が遺伝子の発現する組織によって異なることで説明できるでしょう。非常に保存的で機能的制約が強い遺伝子グループ、例えば脳で発現している遺伝子に起こる突然変異は有害か中立であるものがほとんどで、一度集団中に入ってしまうとほとんどが中立的に振る舞います。反対に、機能的制約が緩い遺伝子では、やや有害な突然変異が一度集団中に広がりそのあとで集団中から除かれます。したがって、一見すると機能的制約の緩い遺伝子ほど集団中で大きな淘汰を受けているように見えてしまうでしょう。

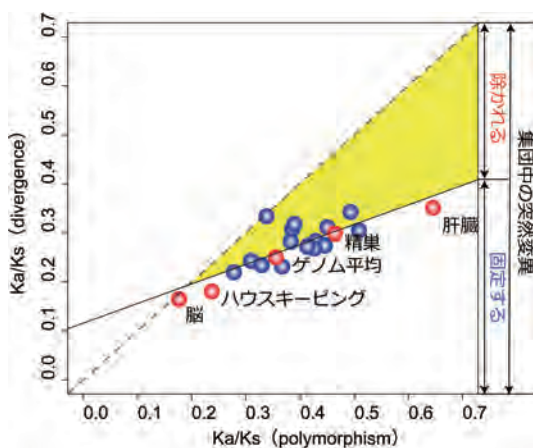


図1 遺伝子が発現する18組織とハウスキーピング遺伝子（すべての組織で発現）ごとに、種間・種内の非同義置換率/同義置換率をプロットしたもの。厳密な中立状態ではデータは対角線上にプロットされると考えられるが、実際は右下に集まる。これはヒト集団中に入ったあとに負の淘汰で除かれる「やや有害な突然変異」の存在を示している。図の灰色の領域が集団から除かれるアミノ酸変異と考えられる。



長田直樹

上の予想を定量的に評価するために、アミノ酸突然変異にかかる淘汰圧が半優性でガンマ分布すると仮定し、Wright-Fisher モデルに基づいて組織ごとの淘汰圧の分布をMCMC法によって推定しました。予想通り、保存的な遺伝子グループでは突然変異は中立か有害かどちらかに振舞うのに対して、機能的制約が緩い遺伝子グループではやや有害な突然変異の割合が多く推定されました。しかし、肝臓や腎臓など遺伝子進化の早いいくつかの組織ではやや有害な突然変異の量を過大評価する傾向が得られました。つまり、機能的制約が緩い遺伝子グループは単純な理論による予測よりも過剰なアミノ酸変異を集団中に持つこととなります。この原因として、劣勢有害突然変異の存在や、平衡淘汰の存在が考えられます。この点は今後さまざまな検証が必要になるでしょう。しかし、全体の傾向としては上で説明したように負の淘汰の強さによる影響がもっとも単純な説明で、影響としては大きいものであると考えています。

文献

N. Osada (2007) *Mol. Biol. Evol.* 24: 1622-1626.



ショウジョウバエの眼の形成における TDF の機能解析

劉
りゅう

慶信
けいしん

国立遺伝学研究所
遺伝情報分析研究室

細胞分化が細胞増殖とどのように関連しているかは発生遺伝学の重要な問題の一つである。ショウジョウバエの複眼形成過程では、同期した細胞分裂に引き続いて約20種類の細胞の運命決定や分化が起こる。我々はショウジョウバエの眼の形成において TDF (tracheas defective) が細胞分裂と分化を制御していることを見出した (図1)。

ショウジョウバエの TDF は *tdf* 遺伝子にコードされる bZIP タンパク質で、気管、心臓、頭部の構造や中枢神経系の形成に関与することが知られているが、TDF がどのように眼の形成に関与するのかは不明である。我々は TDF の眼の形成における機能的役割を明らかとする目的で解析を行った。その結果、まず、TDF は眼原基の morphogenetic furrow (MF) で特異的に発現していることを見出した。MF は細胞周期が同期し、分化の前の最終分裂が起こる場所である。また、モザイク法によって生じた *tdf* を欠損した眼のクローンでは個眼の配列が乱れていた。そこで、GMR-GAL4 と UAS-*tdf* を用いて、眼原基で TDF を強制発現すると、複眼構成細胞の分化に異常が生じた (図1)。さらに、マイクロアレイ法と RT-PCR 法を用いて、S 期サイクリンである cyclinE が *tdf* の標的遺伝子であることを明らかにした。眼原基で TDF を強制発現すると cyclinE が誘導される (図2)。これらの結果から、TDF は眼原基の MF で cyclinE の発現を調節して、G1 期から S 期への進入を制御し、複眼の形成に関与していると予想される (図3)。今後、TDF による cyclinE 発現調節メカニズムを解析することで、TDF がショウジョウバエの眼の形成をどのように制御しているのかを解明できると期待している。



五條堀 孝

広瀬 進

劉 慶信

広海 健

池尾 一穂

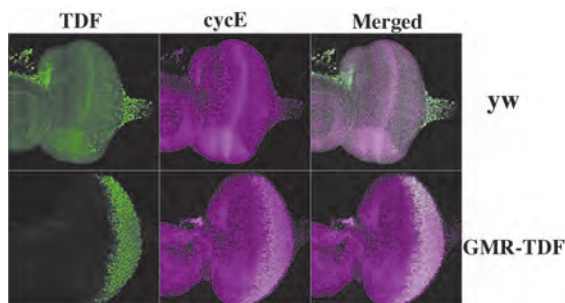


図2 上は正常な TDF と cyclinE の発現パターンである。下は UAS-*tdf* と GMR-GAL4 を用いて TDF を強制発現した眼の原基での TDF と cyclinE の発現パターンである。左側は TDF 抗体染色、真中は cyclinE 抗体染色、右側は TDF と cyclinE 抗体染色の重ね合わせである。

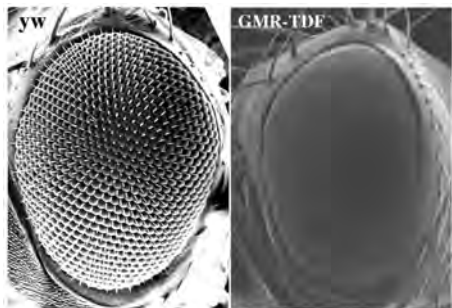


図1 正常な眼 (左) と眼原基で UAS-*tdf* と GMR-GAL4 を用いて TDF を強制発現した表現型 (右)。

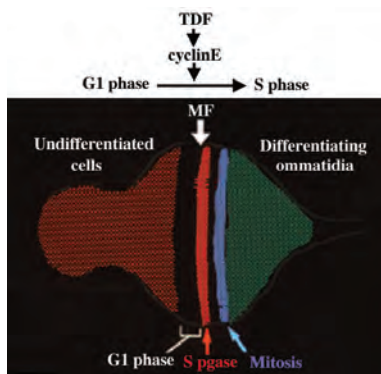


図3 TDF による G1 期から S 期への進入制御。下は眼の原基の模式図である。左側は未分化の細胞で、G1 期から S 期に入ると細胞分化が始まる。TDF は cyclinE の発現の調節によって細胞の G1 期から S 期の進入を制御している。



大腸菌 *in vitro* DNA 複製系を用いた DNA ポリメラーゼスイッチの解析：Pol IV による Pol III 制御機構

古郡 麻子 奈良先端科学技術大学院大学
ふるこおり あさこ バイオサイエンス研究科

ゲノム全体を正確に複製するために、複製忠実度 (fidelity) の高い複製型 DNA ポリメラーゼが必要ですが、複製型ポリメラーゼは鋳型 DNA 鎖上に UV や薬剤などによる損傷を受けた塩基があると DNA 合成を停止してしまいます。近年、損傷があっても DNA 合成することができる、translesion synthesis (TLS) 型ポリメラーゼと呼ばれる fidelity の低い一群の DNA ポリメラーゼの存在が報告されました。細胞は損傷による複製フォークの停止を避けるため、この TLS 型ポリメラーゼを利用していると考えられていますが、その一方で、この TLS 型ポリメラーゼは誤りがちな DNA 合成を行うため突然変異を引き起こす原因の一つとなります。私たちは、このように性質の異なる複数の DNA ポリメラーゼが細胞内でどのように協調的に働いているのかに興味を持ち研究を進めています。今回の発表では、停止した複製型から TLS 型へポリメラーゼが交代するポリメラーゼスイッチ反応 (図 1) を大腸菌の酵素を用いて *in vitro* で再構成し、その詳細を生化学的に解析した結果を報告しました。

大腸菌の複製型ポリメラーゼである Pol III は β sliding clamp と強固に結合することにより、非常にプロセッシブな DNA 合成を行うことが出来ます。たとえ Pol III が DNA 合成できない条件でも、プライマー上の β clamp に Pol III が結合した開始複合体 (図 2 A) は極めて安定で、一度結合した Pol III は数分間鋳型 DNA から外れないことが私たちの

実験系でも確かめられました。ところが、その安定な複合体に TLS 型ポリメラーゼである Pol IV を加えると、わずか15秒間にプライマーに結合したポリメラーゼが Pol III から Pol IV へとスイッチし、DNA 合成を開始すると Pol III に代わって Pol IV が β clamp と共に DNA 合成することを見いだしました (図 2 B)。なぜこのような短時間でスイッチが起きるのか調べたところ、Pol IV を加えると Pol III が直ちに β clamp から外れることが解りました。現在私たちは、Pol IV は Pol III - β

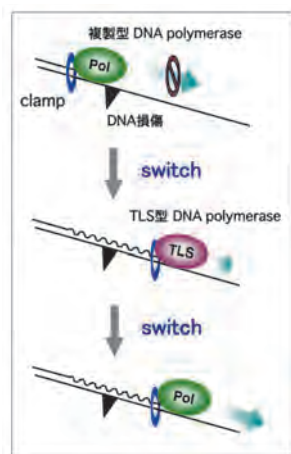
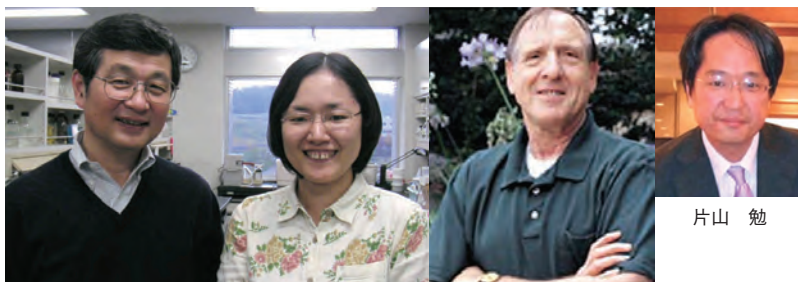


図1 ポリメラーゼスイッチ反応
複製フォークにおいて複製型 DNA ポリメラーゼが塩基損傷などにより停止すると、TLS 型ポリメラーゼが交代して損傷部位の DNA 合成を行い、その後再び複製型ポリメラーゼへと交代し複製フォークが再開すると考えられている。



真木寿治

古郡麻子

Myron F. Goodman

片山 勉

clamp 間の相互作用を阻害して Pol III を追い出しプライマーを奪い取る、能動的なスイッチ活性を持っているのではないかと考えています (図 3)。

Pol IV は大腸菌内で発現を上昇させると突然変異を引き起こすことが知られていますが、この Pol IV のスイッチ活性が原因の一つかもしれません。今後は Pol IV の働きについて、更に詳細な分子メカニズムを明らかにしたいと考えています。

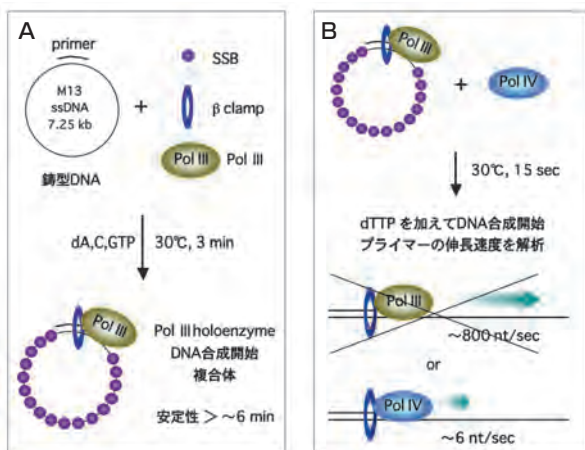


図2 大腸菌 DNA ポリメラーゼを用いた *in vitro* DNA 複製系

A. 鋳型 DNA に SSB、 β clamp、Pol III を加えると、Pol III は β clamp をプライマー上にのせ結合し holoenzyme となる。通常はこの状態で DNA 合成を開始するが、dNTP を三種類に限定し DNA 合成を阻害してもこの開始複合体は極めて安定である。B. 図 2 A の Pol III 開始複合体に Pol IV を加え、その15秒後に DNA 合成を開始させると、プライマーを伸長したポリメラーゼは Pol III ではなく Pol IV であった。

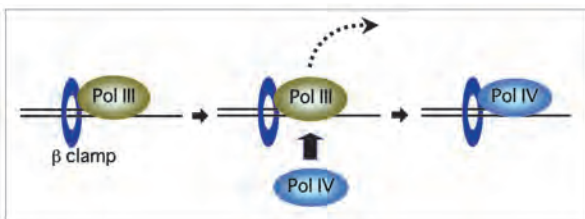
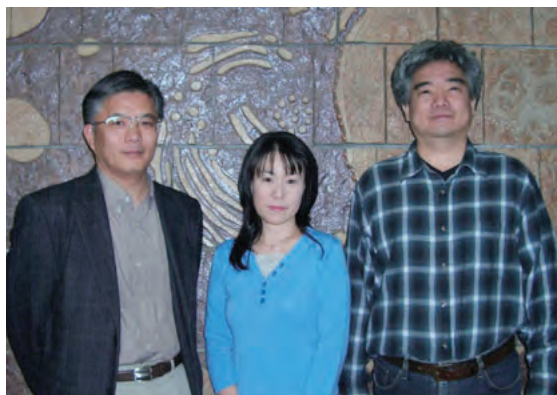


図3 Pol III から Pol IV へのポリメラーゼスイッチ反応のモデル



酸化塩基、8-オキソグアニンのゲノム蓄積は染色体組換えを促進する

大野みずき 九州大学生体防御研究所
おおの 脳機能制御学分野



(左から) 中別府雄作、大野みずき、作見邦彦

私たちは自然突然変異の主要な原因の一つとして活性酸素による酸化 DNA 損傷に注目して研究を行っています。マウスやヒトの細胞では、定常状態で核 DNA あたり数千分子のグアニンの酸化体である 8-oxoguanine (8-oxoG) が恒常的に存在しています。昨年、私たちは 8-oxoG がヒトゲノム中に偏って分布していることを明らかにし、8-oxoG が局在するゲノム領域では減数分裂期の組換え頻度と一塩基多型の頻度が統計学的に有意に高いことを報告しました (Ohno et al. Genome Res. 2006, 図 1)。この結果は、ヒトゲノム中に蓄積している 8-oxoG は塩基置換や染色体組換えを誘発し、ゲノムの多様性を生む原因となっていることを示唆しています。

今回私は、8-oxoG のゲノム蓄積と染色体組換えの因果関係を実験的に検証するために、8-oxoG 修復関連遺伝子 (*Ogg1*; DNA 中のシトシンに対称した 8-oxoG を切り出す活性を持つ酵素をコード、*Mth1*; スクレオチドプール中の 8-oxo-dGTP をポリメラーゼの基質にならないリン酸型に分解する活性を持つ酵素をコード) を欠損させたマウスと野生型マウスから調製した細胞を用いて実験を行いました。

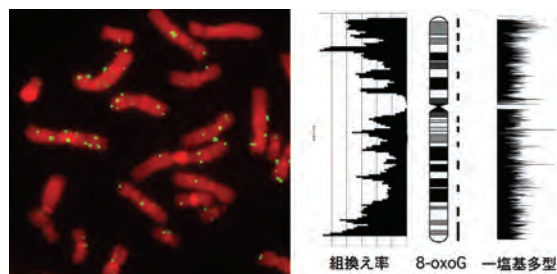


図 1 8-oxoG の蓄積領域では塩基置換と組換え頻度が高い
左) ヒト染色体標本を用いて 8-oxoG 抗体により免疫染色を行うと、200ヶ所程度のゲノム領域でドット状のシグナルが検出される。染色体 DNA (赤)、8-oxoG シグナル (黄色)。右) 11 番染色体における 8-oxoG 局在領域と減数分裂期の組換え率および一塩基置換率の分布の比較。

た。体細胞組換えの指標として脾臓から分離したリンパ球を培養後、染色体標本を作製し姉妹染色分体交換 (SCE) の頻度を比較しました。また減数分裂期相同組換え頻度の比較には、精巣から分離した細胞をスライドガラス上に展開し、蛍光免疫染色法により減数分裂パキテン期の細胞における MLH1 foci (組換えスポット) の数を解析しました。その結果、*Ogg1* および *Ogg1/Mth1* 遺伝子欠損マウスでは 8-oxoG のゲノム蓄積が増加し、野生型マウスに比べて体細胞でも生殖細胞でも染色体組換え頻度が上昇していることが明らかになりました (図 2)。また *Ogg1* および *Mth1* 遺伝子の発現を精巣で確認したところ、両遺伝子とも減数分裂期の細胞で高い発現を認めました。これらの実験結果は 8-oxoG がゲノム多様性の誘発要因であるとする私たちの仮説を強く裏付けるものです。今後はさらに 8-oxoG が特定のゲノム領域に蓄積する理由や DNA 構造、複製/転写等の機能構造との関連を明らかにすることで、酸化塩基が哺乳類ゲノム進化に及ぼす影響を考察したいと考えています。

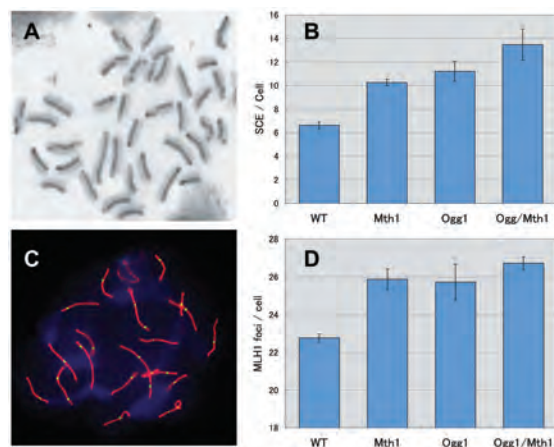


図 2 8-oxoG がゲノムに蓄積する変異マウスでは染色体組換え頻度が高い

A) *Ogg1* 遺伝子欠損マウス (*Ogg1*^{-/-}) の脾臓から分離したリンパ球を用いての SCE 標本。BrdU 存在下で DNA 複製を二回行わせた時、BrdU を両鎖に取り込んだ姉妹染色分体 (SC) は薄い灰色に染まり、鋳型鎖を含み BrdU を片側鎖にのみ取り込んでいる SC は濃く染まる。組換えが起こった部位は濃染した SC が切断されたように見える。

B) SCE 数の比較。野生型 (WT) に比較して変異マウス (*Ogg1*^{-/-}, *Mth1*^{-/-}, *Ogg1*^{-/-}/*Mth1*^{-/-}) から分離した脾臓リンパ球では SCE 数が増加している。1 個体につき 30 細胞以上、各遺伝子型につき 3 個体以上解析し、平均値と SD を表示している。

C) *Ogg1* 欠損マウス精巣由来の減数分裂パキテン期の細胞を用いた蛍光免疫染色。赤: シナプトネマ複合体 (SCP3)、黄色: 組換えスポット (MLH1)、青: DNA (DAPI)

D) 組換えスポット (MLH1 のフォーカス) 数の比較。野生型 (WT) に比較して変異マウス由来細胞では MLH1 のフォーカスの数が増加している。1 個体につき 30 細胞以上、各遺伝子型につき 3 個体以上解析し平均値と SD を表示している。



アルキル化損傷細胞にアポトーシスを誘導する新規遺伝子の同定

日高
ひだか

真純
ますみ

福岡医科大学
細胞分子生物学講座



日高 真純、中津可道、小森加代子、関口睦夫、高木康光

DNA のアルキル化修飾によって生じる O^6 メチルグアニン (O^6 meG) は DNA 複製を阻害しない小さな傷で、複製に際してシトシン以外にチミンと対合するために、2 回の DNA 複製反応を経ることにより G:C から A:T への突然変異を引き起こす (図 1)。このような突然変異を抑制するために、生物は少なくとも 2 つの防御策を持っている。一つが O^6 メチルグアニンメチルトランスフェラーゼ (MGMT) による DNA 修復反応で、二つめがミスマッチ修復 (MMR) タンパク質に依存したアポトーシス反応である。これらの反応に異常を持つ *Mgmt* と *Mlh1* (MMR 遺伝子の一つ) の二重欠損マウスではアルキル化剤投与後に多くのがんが生じたことから、このアポトーシスが、変異原性の O^6 meG を DNA 上にもつ細胞を排除することにより、発がん抑制において重要な役割を果たしていることが明らかになってきた。そこで我々はこのアポトーシス機構の解明をめざし、アポトーシス誘導経路で機能するタンパク質の網羅的な同定を遺伝学的手法により行うことにした。

修復酵素 MGMT を欠損する細胞はアルキル化剤に対して高い感受性を示す。ところが、MMR タンパク質のようにアポトーシス誘導で機能するタンパク質を同時に欠損した細胞は、アポトーシスを誘導できなくなりアルキル化剤に対して抵抗性を獲得する。そこで我々は、この表現系をアポトーシス誘導欠損細胞のスクリーニング法に利用した。レトロウイルスベクターを用いた遺伝子トラップ法に

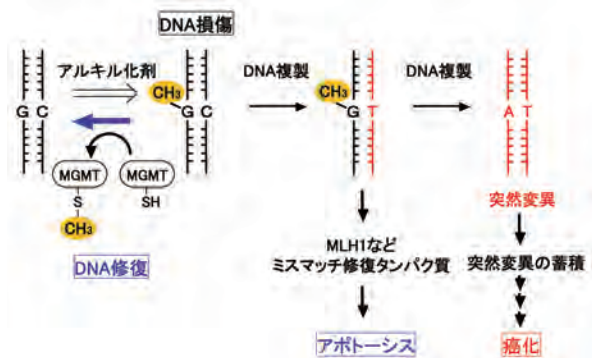


図 1 アポトーシス誘導による遺伝子の安定化機構

変異原性の修飾塩基 O^6 メチルグアニンにより誘導される DNA 修復とアポトーシス反応を示す。

より、アルキル化剤感受性を示す *Mgmt* 欠損細胞に由来する遺伝子破壊株ライブラリーを構築し、その中からアルキル化剤に抵抗性を示す突然変異株を多数分離した (図 2)。その中のひとつに着目し解析を進めたところ、このアルキル化剤抵抗性細胞は、アポトーシス誘導の指標の一つであるカスパーゼ 3 活性の上昇もコントロール細胞に比

べて低下していることがわかった。PCR 法によりその破壊遺伝子を同定したところ、それは機能未知な新規遺伝子 Y3 (仮称) であった。そして、Y3 遺伝子に特異的な siRNA を用いた遺伝子ノックダウン細胞もアルキル化剤に対して抵抗性になることから、この因子が確かにアポトーシス誘導において重要な機能を担っていることが確認された。さらに、この変異株はアルキル化剤処理によるゲノム DNA の突然変異頻度がコントロール細胞に比べて上昇することから、Y3 遺伝子がアポトーシス誘導を介した遺伝子安定化機構において重要な役割を担っていることが示唆された。

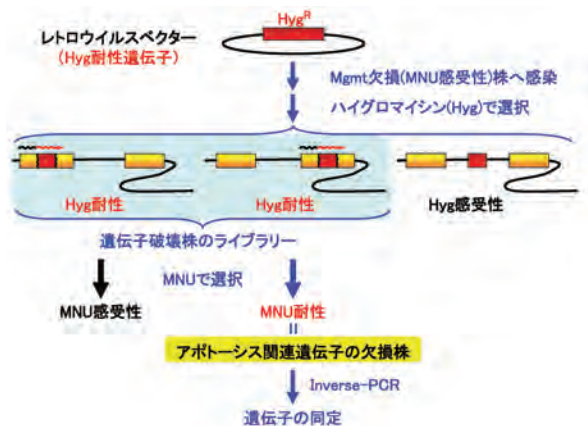
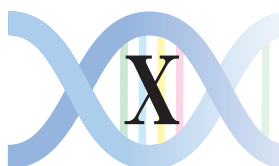


図 2 アポトーシス関連遺伝子欠損細胞株のスクリーニングの概要

プロモーター領域を欠いた薬剤耐性遺伝子 (Hyg^R) をもつレトロウイルスベクターを *Mgmt* 欠損細胞に感染させ、一次スクリーニングでハイグロマイシン耐性株を選択し遺伝子破壊株ライブラリーを構築する。その中からさらに、二次スクリーニングとして、単純アルキル化剤であるメチルニトロソウレア (MNU) 処理に対して耐性を獲得した株を選択する。これらはアポトーシス誘導欠損細胞株である可能性が強く、その破壊遺伝子は PCR 法にて容易に同定することが出来る。

今後は、Y3 タンパク質の生化学的な解析を行うとともに、その他にも単離したアポトーシス誘導欠損細胞の解析も行い、アポトーシス誘導の分子機構の全体像を明らかにしたいと考えている。また、Y3 遺伝子のノックアウトマウスの作出も行い、Y3 タンパク質の個体レベルでの生理機能、特にがん抑制における機能に着目した研究も展開したい。



G タンパクを介した温度受容メカニズムと温度情報伝達の機能的神経回路

久原 篤
くはら あつし

篤
あつし

名古屋大学 大学院理学研究科
生命理学専攻 助教

“温度”は地球上のどこに行っても常に存在する情報です。動物は、この温度情報を主に神経系で感知することで体温や代謝を調整しています。1997年、Caterinaらは、神経系において温度に応答する受容体として、6回膜貫通型のイオンチャネル (TRPチャネル)

を同定しました。以来、TRPチャネルが「温度受容体」として機能することは周知の事実となりました。しかし、神経系で温度受容に関わる分子経路はTRPチャネル経路だけでしょうか？我々は、その疑問に答えるため、線虫 *C. elegans* の温度走性を指標に、温度受容メカニズムの解明を目指しています。

温度走性とは、一定の「温度」で、「えさ (大腸菌)」の存在する条件下で飼育された *C. elegans* が、温度勾配上で過去の飼育温度へ向かう行動です (図1)⁽¹⁾。例えば、17℃で飼育された個体は温度勾配上で17℃に移動します (図1)。これまでに、温度走性の変異体が多数単離され、それらの原因遺伝子の解析から、温度受容に関わる分子経路の大枠が明らかになってきました (図2)。具体的には、温度受容ニューロンにおいて、温度情報はcGMP合成酵素であるグアニリル酸シクラーゼとその下流のcGMP依存性チャネルを介して、ニューロン内のCa²⁺濃度を上昇させることで伝達されることが明らかになりました (図2)⁽²⁾。温度情報伝達の感度調整には、Ca²⁺依存性脱リン酸化酵素カルシ



久原 篤

森 郁恵

森研究室



奥村将年 久原 篤
2001年 (当時共にD1)

ニューリンが関わっていることも明らかになりました^{(3),(4)}。また、最近、Gタンパクが温度受容に関わっていることも示唆されました。

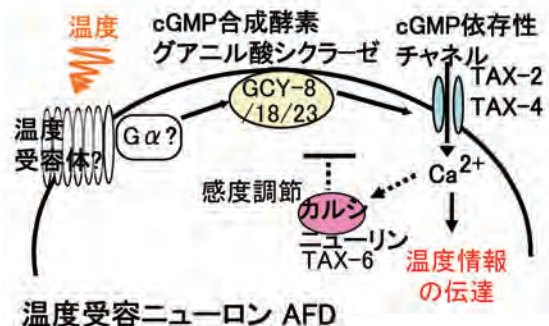


図2 温度情報伝達の分子モデル

温度受容ニューロンにおいて、温度は未同定の温度受容体で受容され、Gタンパク (未同定) からcGMP合成酵素を介してcGMP依存性チャネルを開閉し、細胞内Ca²⁺濃度を変化させると考えられる。カルシニューリンは温度情報伝達の感度を調節。

GタンパクからcGMP依存性チャネルを介した神経情報伝達経路は、哺乳類の視覚や嗅覚ニューロンにおける主要な感覚情報の伝達経路であることから、*C. elegans* の温度情報伝達は、哺乳類の視覚や嗅覚と類似した分子メカニズムで制御されていると予想されます。今後は、高等動物においても同様の分子経路が存在しているかが、大きな課題であるといえます。

謝辞：本BP賞の研究は、特に奥村将年さん (名大院理) と共同で行なわれ、森郁恵教授をはじめとする森研究室のみなさんに支えて頂きました。心より感謝申し上げます。

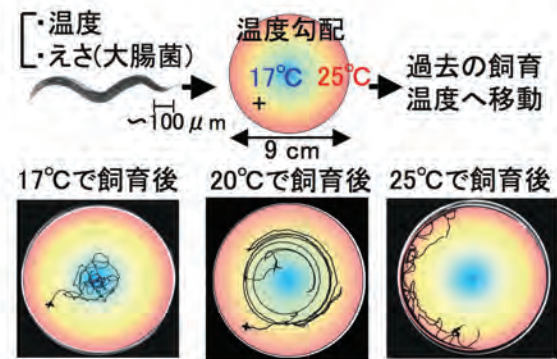


図1 *C. elegans* の温度走性行動

C. elegans を一定の飼育温度で餌の存在下で飼育した後、餌のない中央が17℃~25℃の温度勾配上の×印に置き、約1時間自由に運動させた時の軌跡。各飼育温度に移動する。

(1) Mori & Ohshima, *Nature* 376, 344, 1995.

(2) Inada et al., *Genetics*, 172, 2239, 2006.

(3) Kuhara et al., *Neuron* 33, 751, 2002.

(4) Kuhara & Mori, *J. Neurosci.* 26, 9355, 2006.

寿崎 拓哉 東京大学 大学院理学系研究科
すざき たくや 生物科学専攻

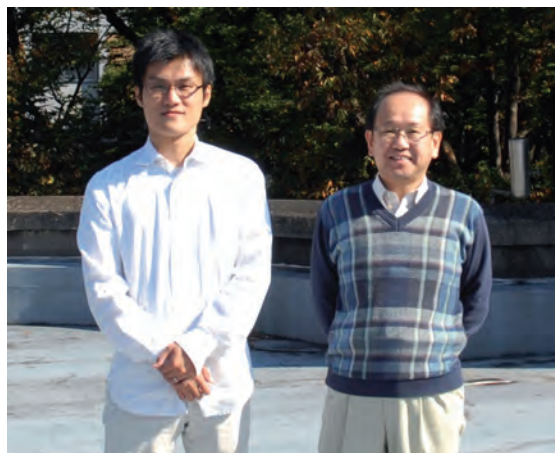
植物では、葉や花などのほぼすべての側生器官はメリステムと呼ばれる組織から形成されるため、植物の発生・形態形成にとって、メリステムの維持制御は極めて重要です。シロイヌナズナでは *CLAVATA* (*CLV*) シグナル伝達系によりメリステムの維持制御が行われていることが知られています。一方、他の植物においてはメリステムの維持制御に関する遺伝的研究は報告例が少なく、シロイヌナズナのメリステムの維持制御と類似した機構が植物に普遍的に存在するものなのかは明らかになっていません。当研究室では、イネを研究材料に用いて、イネのメリステムを維持制御する遺伝的機構を明らかにするための研究を行っています。これまで、メリステムの維持制御に関わる *FLORAL ORGAN NUMBER1* (*FON1*) および *FON2* 遺伝子の機能解析を行ってきました。その結果、イネにおいても、*CLV* シグナル伝達系が基本的には保存されていること、その一方で、イネに独自の制御系が存在していることを明らかにしてきました^(1,2)。

ポジショナルクローニング法により、*FON2* を単離する過程で、インディカの遺伝的背景がジャポニカの *fon2* 変異を抑圧している可能性が示唆されました。そこで遺伝学的・分子生物学的な解析を進めた結果、*fon2* サプレッサーとして、*FON2 SPARE* (*FOS2*) と名付けたペプチド性シグナル分子をコードしている遺伝子を同定しました。インディカの *FOS2* のゲノム断片を *fon2* 変異体に導入すると、*fon2* 変異を抑圧したことから、*FOS2* が *fon2* 変異のサプレッサーであることが証明されました (図1)。さらに、インディカの *FOS2* は *fon1* 変異も抑圧したことから、*FOS2* は *FON1* とは異なるレセプターを認識する可能性が示唆されました。in situ ハイブリダイゼーションにより、*FOS2* の発現パターンを調べたところ、*FOS2* は地上部の全てのメリステムと、根では根端分裂組織において発現が観察されました。また、*FOS2* を構成的に発現させると、シュート頂のメリステムの維持を正常に行うことができませんでした。この結果は、*FOS2* がシュート頂のメリステムの維持制御に関わっていることを示唆しています。さらに、*FOS2* の合成ペプチドの添加実験の結果から、*FOS2* が根端分裂組織の維持制御にも関わることを示唆されました。



図1 花の表現型

(A) 野生型。(B) *fon2* 変異体。(C) *fon2* 変異体にインディカの *FOS2* ゲノム断片を導入した形質転換体。*fon2* 変異体にインディカの *FOS2* ゲノム断片を導入すると、*fon2* 変異体でみられる花器官数の増加がみられなくなる。矢印は雌しべを示す。



(左から) 寿崎拓哉、平野博之

図2 イネの栽培種におけるメリステム制御の多様性

イネのメリステムの維持制御において、インディカの栽培種では *FOS2* と *FON2* は冗長的に機能している。ジャポニカの栽培種では *FOS2* の機能が低下、あるいは喪失している。したがって、*FON2* に変異が入ると、インディカでは変異の影響がみられないのに対して、ジャポニカでは花メリステムのサイズが増大する。

本研究により、インディカの栽培種では、メリステムの維持制御には、*FON2* と *FOS2* が冗長的に機能していることが明らかとなりました。また、ジャポニカの栽培種では *FOS2* の機能が喪失あるいは低下していることが示唆され、栽培イネの中だけでも、メリステムの維持制御の遺伝的機構が多様化していることが示唆されました (図2)。今後は *FOS2* のレセプターを単離し、またメリステムの制御に関わる他の遺伝子の機能を明らかにすることで、イネのメリステムの維持制御の遺伝的機構を詳細に解析していきたいと考えています。さらに、それを発展させることにより、高等植物のメリステムの制御の共通性・多様性がより明確になっていくことが期待されます。

参考文献

- (1) Suzaki et al. Development 131: 5649-5657, 2004.
- (2) Suzaki et al. Plant Cell Physiol. 47: 1591-1602, 2006.



ウシグソヒトヨタケにおける重力屈性欠損突然変異体 B199 株の分子遺伝学的解析

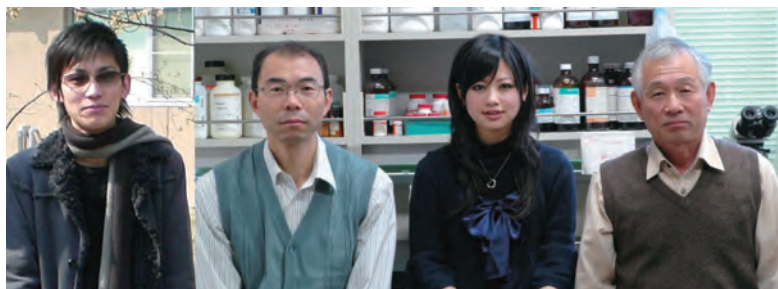
上田 菜々恵
うだ ななえ

岡山大学大学院 自然科学研究科
生物科学専攻

真正担子菌ウシグソヒトヨタケ (*Coprinus cinereus*) は高等菌類のモデル生物である。この菌は主として有性生殖により増殖し、その過程で植物の花に相当する生殖器官である子実体(きのこ)を形成する。子実体は、光、重力、温度、水分、栄養、ガスなど様々な環境因子に応答して形成されると考えられているが、光以外の環境因子と子実体形成とのかかわりについては、分子レベルの研究はほとんどなされていない。そこで、光と並んで重要な環境因子である重力に注目し、子実体の重力屈性について研究を行った。

まず、ヒトヨタケ子実体の重力屈性に欠損を示す突然変異体 B199 株を restriction enzyme-mediated integration (REMI) 法により誘発・分離した。野生型では、子実体形成の最終段階で柄が急速に伸長(8.4倍/15時間)し、その際に鋭敏な負の重力屈性が示され、首振り運動も観察される。それに対し B199 株では、重力屈性が見られず、また、柄の伸長率が野生型と比べて低い(図1)。つぎに、B199株の重力屈性変異の原因遺伝子 *grv1* を、変異を相補する DNA 断片としてクローニングし、詳細に解析した。その結果、*grv1* は、Major Facilitator Superfamily (MFS) に属する共輸送体の一つをコードしていることが推定された。また、REMI に用いたプラスミドは、*grv1* ORF内の5'側領域に挿入されていることがわかった。さらに、*grv1* は子実体の柄で特異的に発現しており、急速な柄の伸長の直前に強く発現することが明らかとなった(図2)。

植物の重力屈性では、平衡細胞内のアミロプラストの重力方向への沈降によりオーキシン輸送が変化し、その結果、細胞壁代謝の不均衡が起これ、屈曲が引き起こされると考えられている。一方、菌類においては、接合菌類ヒゲカビの胞子嚢柄や担子菌類の子実体が重力屈性を示すことが知られているが、分子レベルの研究はこれまでほとんどなされておらず、そのしくみは謎に包まれていた。本研究によって子実体の重力屈性に共輸送体がかかわっていることが示された。今後、Grv1 共輸送体が、柄組織のどの細胞で発現し、どのような物質を



左より、藤田剛嗣、中堀 清、上田菜々恵、鎌田 堯

輸送しているかが明らかになれば、菌類における重力屈性の機構を理解する上での突破口が開けるかもしれない。

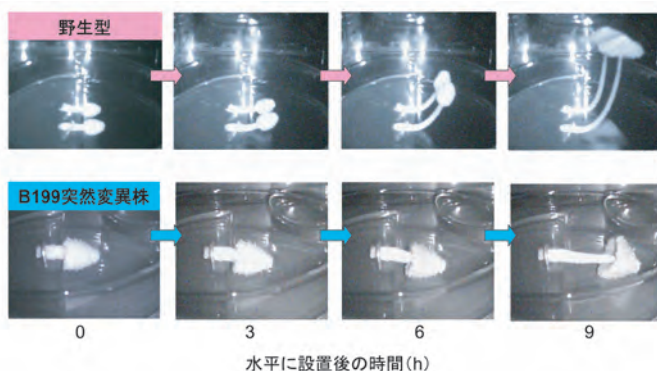


図1 子実体発生過程における重力屈性反応

急速な柄の伸長が始まる成熟当日18:00の子実体を水平に設置し、屈性反応を観察した。

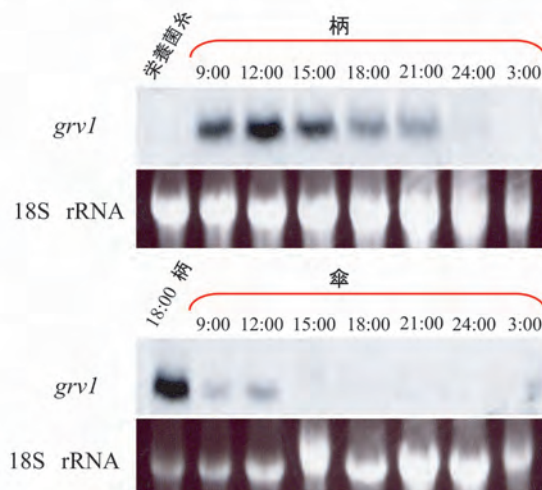


図2 子実体発生の進行に伴う *grv1* 発現の変化を示すノーザンブロット時刻は、子実体成熟当日の時刻を示す。



体細胞分裂の染色体接着を制御する新規カスケードの発見

松永 幸大
まつなが さちひろ

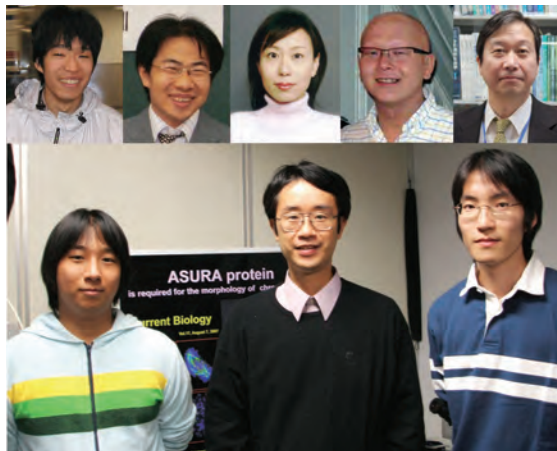
大阪大学大学院 工学研究科
生命先端工学専攻

大阪大学大学院 工学研究科
生命先端工学専攻

1882年にフレミングが染色体を記載して以来、「染色体の形態構造がどのように構築されるか？」は世紀を超えた謎である。私達はヒトの中期染色体プロテオーム解析により、107個の染色体タンパク質を同定した。染色体における機能が未解析であった約30個のタンパク質についてRNAiによるノックダウン解析を行った。その結果、ヌクレオリン、ヒストン H1X など、従来知られていなかった染色体タンパク質の機能を明らかにすることができた^{1),2)}。さらに、染色体形態構築に関与するタンパク質を単離するために、展開染色体標本を作成して、詳しく解析した。その中に、その染色体数が倍になり、X字型の染色体構造を形成しない表現型を見出した(図1)。染色体のX字型構造の要にあたる動原体において、姉妹染色分体が解離したために、このような表現型が生じたのである³⁾。

その原因タンパク質は、各研究分野の研究者が別々の呼称で研究を進めている PHB2/BAP37/REA であった。PHB2 は PHB1 と複合体を形成してミトコンドリアに局在し、ミトコンドリアの形態形成やアポトーシス経路に関与する。また、BAP37 は B 細胞の細胞膜上で IgM 受容体と相互作用する。さらに、REA は、細胞核内で女性ホルモンであるエストロゲンの受容体阻害因子であり、乳ガン発症との関連性が示唆されている。このように、PHB2/BAP37/REA は、ミトコンドリア、細胞膜、核で様々な機能を持ち、三面六臂の活躍をするタンパク質であった。染色体の形態構築に関与するタンパク質は、ヒトのゲノムを次世代へ継承する大切なタンパク質である。そこで、仏典の守り神で三面六臂の体を持つ「阿修羅」のサンスクリット語源にちなんで、このタンパク質を染色体形態機能に関して ASURA と呼ぶことにした。

DNA 複製によって生じた姉妹染色分体はコヒーシ複合体と呼ばれるタンパク質複合体によって接着している。体細胞分裂前期から前中期にかけて、コヒーシ複合体はキナーゼの一種 Plk によってリン酸化されて分解される。ところが、動原体部分のコヒーシ複合体はリン酸化されずに保護されるために、姉妹染色分体は動原体部分で接着したままになる。こうして、体細胞分裂中期に、動原体以



上段左から、高田英昭、馬 楠、真庭-大野理香、内山 進、福井希一
下段左から、栗原大輔、松永幸大、森本晃弘

外の染色体腕部が解離したX字型染色体構造が構築される。ASURA タンパク質がなくなると、動原体部分におけるコヒーシ複合体が保護されず、リン酸化されて分解されるために、姉妹染色分体の解離が見られ、体細胞分裂後期に進行できなくなる(図2)。今後、ASURA タンパク質の相互作用解析を進め、染色体形態構築における ASURA 経路を明らかにしていきたい。

文献

- 1) Ma, N., Matsunaga, S., Takata, H. *et al. J. Cell Sci.*, 120, 2091-2105 (2007).
- 2) Takata, H., Matsunaga, S., Morimoto, A. *et al. FEBS Lett.*, 581, 3783-3788 (2007).
- 3) Takata, H., Matsunaga, S., Morimoto, A. *et al. Curr. Biol.*, 17, 1356-1361 (2007).

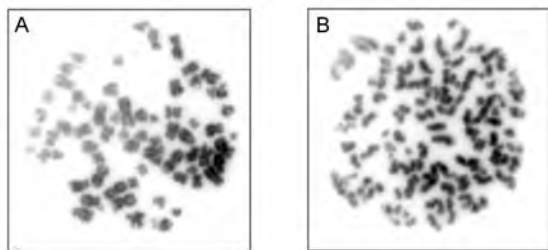


図1 ASURA ノックダウンによるヒト培養細胞の染色体形態への影響

(A) コントロール細胞の染色体。X字型の染色体が見られる。
(B) ASURA ノックダウン細胞の染色体。染色体本数が倍加して、X字型構造をとらない。

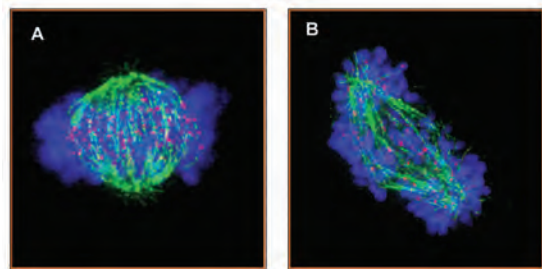


図2 染色体整列に異常を示す ASURA ノックダウン細胞
蛍光抗体染色法でヒト培養細胞の微小管、動原体、染色体を3重染色した。

(A) 体細胞分裂中期のコントロール細胞。染色体が中央部に整列し、両極から微小管が伸長して紡錘体を形成している。(B) ASURA ノックダウン細胞。両極から微小管が伸長して紡錘体を形成しようとしているが、染色体が整列できていない。