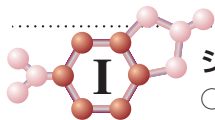


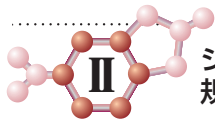
日本遺伝学会第80回大会 Best Papers 賞



ショウジョウバエ近縁種における遺伝子発現の可塑性と進化

○郷 康広、Pierre Fontanillas、Daniel Hartl

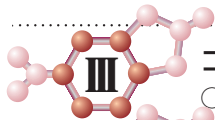
(京都大学理学研究科グローバル COE 特別講座)



シロイヌナズナの葉の発生分化に関わる AS2、AS1 による新規遺伝的ネットワークの解明

○岩川秀和¹、高橋広夫^{1,2}、RÉMI MAZET²、岩崎まゆみ¹、小島晶子^{1,2}、小林 猛^{1,2}、町田泰則³、町田千代子^{1,2}

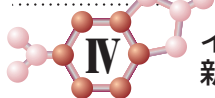
(¹中部大学 植物バイオ研究センター、²中部大学 応用生物学部、³名古屋大学大学院 理学研究科)



コンデンシンが結合するシス配列とその結合の分子機構

○定塚勝樹、堀内 嵩

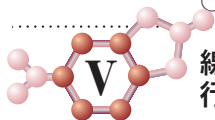
(基礎生物学研究所 ゲノム動態研究部門)



イネの小穂器官のアイデンティティを決定する新規遺伝子の解析

○吉田明希子、寿崎拓哉、平野博之

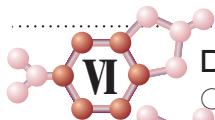
(東京大学大学院 理学系研究科 生物科学専攻)



線虫 *C. elegans* における匂いの濃度に依存した行動変化を制御する神経回路の解明

○吉田和史^{1,2}、広津崇亮¹、飯野雄一²、石原 健¹

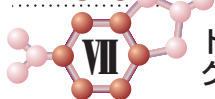
(¹九州大学大学院 理学研究科 生物科学部門、²東京大学大学院 理学系研究科 生物化学専攻)



DnaA による 2 重鎖開裂における複製起点の最小機能構造

○尾崎省吾、片山 勉

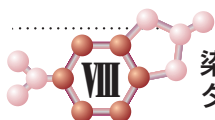
(九州大学大学院 薬学研究科 分子生物薬学分野)



トランスポゾン CACTA の転移を抑制するクロマチン因子

○三浦明日香、照井明子、角谷徹仁

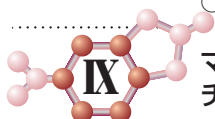
(国立遺伝学研究所 総合遺伝研究系 育種遺伝研究部門)



染色体 DNA の複製開始期に形成されるタンパク質複合体の解析

○平井和之、村松佐知子、荒木弘之

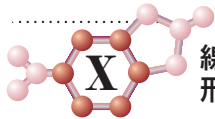
(国立遺伝学研究所 微生物遺伝研究部門)



マウス亜種間における生殖隔離と減数分裂期のチェックポイント機構との関連

○岡 彩子¹、高田 幸²、古関明彦²、森脇和郎³、城石俊彦⁴

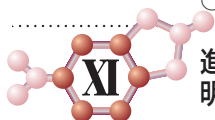
(¹大学共同利用機関法人 情報・システム研究機構 新領域融合研究センター ²独立行政法人 理化学研究所 免疫・アレルギー科学総合研究センター ³独立行政法人 理化学研究所 バイオリソースセンター ⁴大学共同利用機関法人 情報システム研究機構 国立遺伝学研究所)



線虫 *C. elegans* における温度受容から温度記憶の形成への変換に関する転写連動モデル

○杉 拓磨、西田征央、森 郁恵

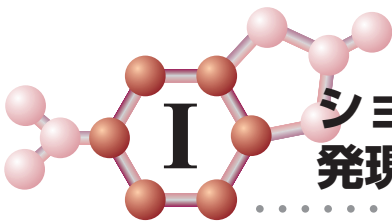
(名古屋大学 大学院理学研究科 生命理学専攻)



進化の単位が ORF では無い場合：同種内多数ゲノム比較から明らかになったパラログ遺伝子タンデム・クラスターの再編進化機構

○鶴 剛史、小林一三

(東京大学大学院 新領域創成科学研究科 メディカルゲノム専攻)



ショウジョウバエ近縁種における遺伝子発現の可塑性と進化

郷
こう

康広
やすひろ

京都大学理学研究科
グローバル COE 特別講座

生物がその進化の過程で獲得した様々な表現型の違いは、DNA レベルでは coding/non-coding 領域に起きた変異がそのソースであり、RNA レベルでは遺伝子発現の多様化やネットワークの変化が重要であると考えられる。特に、性染色体を除いてゲノムが等しい性の間の表現型の違いには、RNA レベルでの変化が重要である。我々は、RNA レベルでの多様化が、異なった種や性の表現型の多様化にどのような役割を果たしているのか、またそれがどのような要因によって決まっているか明らかにすることを目的とした。

遺伝子発現を定量化するために、エクソン特異的なマイクロアレイを作成し、ショウジョウバエ近縁種における種間・性間における遺伝子発現変化を調べた。その結果、調べた遺伝子の約半数 (~6,550) において、オスカメスどちらかに偏った遺伝子発現パターンを示した。さらに発現の多様化をゲノムワイドに解析したところ、その多様化は種間の違いよりも異なる性の間において、より顕著であった (図1)。性に偏った発現パターンを示す遺伝子は、染色体上の位置にも偏りがあり、オスに強く発現する遺伝子の数は、X 染色体上に期待されるより有意に少なかった。これは、オスとして重要な機能を果たす遺伝子が X 染色体上にあると、ヘミ接合体のためにそのスペアがなく、有害な変異が起きた場合の適応度が下がるために、X 染色体から常染色体へとその位置を変えていったためだと推測される。

種間での遺伝子発現を比較したところ、リゾチームやトリプシンなどの消化酵素が種特異的な変化を示した (図2)。特に、トリプシンはその大部分の遺伝子ファミリーがセイシエルショウジョウバエにおいて、遺伝子発現低下が見られた。セイシエルショウジョウバエは非常に限られたニッチと偏った食性を持つように進化してきたために起きた変化だと考えられる。

遺伝子発現の可塑性を規定するゲノム要因を一般化線

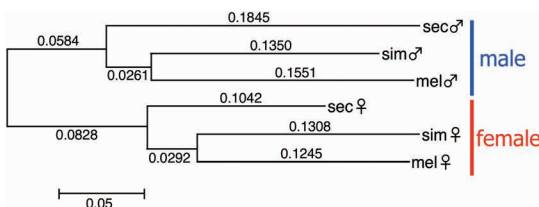


図1：遺伝子発現系統樹

ゲノムワイドな遺伝子発現の変化を数値化し、近縁関係を系統樹として表した。近縁種においては、同性異種のほうが同種異性より遺伝子発現プロファイルが似ていることが分かった。mel: キイロショウジョウバエ, sim: オナジショウジョウバエ, sec: セイシエルショウジョウバエ



郷 康広

Pierre Fontanillas

Daniel Hartl

形解析により調べたところ、エクソンの長さやイントロンの長さとの負の相関、mRNA の絶対発現量とは正の相関、また種間においてはプロモータ領域に存在する TATA ボックス配列の有無と正の相関を示した (図3)。遺伝子長、mRNA の発現量と発現可塑性の強い関連性の理由は今のところ明らかでないが、TATA ボックス配列の有無はクロマチン構造とも深く関係していることが明らかにされつつある。今後は、発現制御・発現可塑性の進化にエビデネティクスが及ぼす影響も加味していくことで、トランスクリプトームの進化を理解したいと考えている。

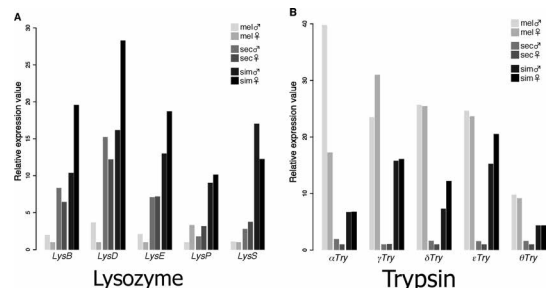


図2：種間における相対遺伝子発現量の比較

リゾチーム (Lysozyme) 遺伝子ファミリーにおいては、mel に於いて相対発現量の低下が見られ、トリプシン (Trypsin) ファミリーでは、sec に顕著な発現低下が見られた。mel: キイロショウジョウバエ, sim: オナジショウジョウバエ, sec: セイシエルショウジョウバエ

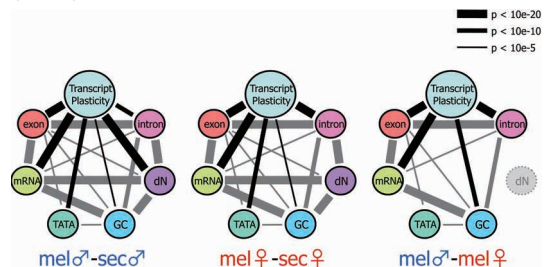
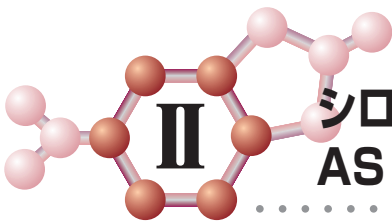


図3：遺伝子発現可塑性を規定するゲノム要因

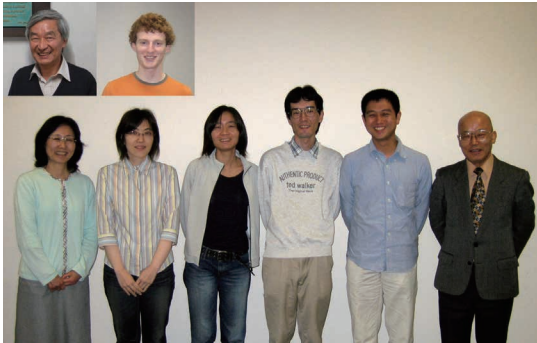
可塑性を規定するゲノム要因は、エクソンの長さ、mRNA の絶対発現量、TATA 配列の有無などが主なるものであることが分かった。mel: キイロショウジョウバエ, sim: オナジショウジョウバエ, sec: セイシエルショウジョウバエ



シロイヌナズナの葉の発生分化に関わる AS2、AS1 による新規遺伝的ネットワークの解明

岩川 秀和
いわかわ ひでかず

中部大学
植物バイオ研究センター



上段左から、町田泰則、RÉMI MAZET
下段左から、町田千代子、小島晶子、岩崎まゆみ、岩川秀和、高橋広夫、小林 猛

植物の葉は茎頂メリステムとよばれる幹細胞集団から発生し、三つの軸、すなわち基部先端部軸、中央側方軸、向背軸（表裏の軸）にそって成長する扁平で左右相称的な器官である（図1）。シロイヌナズナの *ASYMMETRIC LEAVES1* (AS1) と *ASYMMETRIC LEAVES2* (AS2) は、茎頂メリステムの形成・維持に関わる class 1 *KNOX* 遺伝子の発現を抑制して葉の分化状態を維持しつつ、三つの軸にそった葉の形成に関わっている。AS1 と AS2 蛋白質は相互作用して働き、同じ遺伝子経路で機能している。

本研究では、葉の発生過程において AS1 と AS2 が関わる遺伝子発現制御のネットワークの解明を目的として、マイクロアレイとクラスタリング解析を行った (Takahashi et al., 2008)。野生型、*as1* 変異体、*as2* 変異体、AS2 過剰発現植物から RNA を調製して遺伝子発現レベルを比較し、我々が開発した知識ベース FuzzyART (KB-FuzzyART) 法を用いてクラスタリングを行った（図2）。KB-FuzzyART 法では全発現データをクラスタリングする前に、AS1 や AS2 の機能と関連があると期待される遺伝子（既知遺伝子）のみをクラスタリングする。本解析ではすでに報告されている、発生分化関連遺伝子、植物ホルモン関連遺伝子、細胞周期関連遺伝子等を既知遺伝子として用いた。クラスタリングによって既知遺伝子を17グループに分類したのち、全発現データを発現パターンに従って17グループにあてはめた。AS1 と AS2 は class 1 *KNOX* の *BREVIPEDICELLUS* (BP) の転写を抑制することがわかっていたので、BP が含まれるクラスタに着目した。このクラスタの中には葉の裏側因子である *ETTIN* (ETT) と *YABBY5* (YAB5) が含まれていた。real-time PCR を行った結果 ETT と YAB5 は BP と同様に AS1、AS2 によって抑制されていることがわかった (Iwakawa et al., 2007)。以上の結果から、AS1 と AS2 は class 1 *KNOX* を抑制して葉の細胞の分化状態を維持しつつ、ETT と YAB5 を抑制して葉の表側化に関わっていると考えられる（図3）。

今回、KB-FuzzyART によって、AS1 と AS2 が制御す

る遺伝子発現ネットワークの中に ETT と YAB5 の経路を見つけた。今後は AS1 と AS2 が関わる新規ターゲットを探索するべく、BP と似たパターンのクラスタや逆相関を示すクラスタなどを調べる必要がある（図3）。

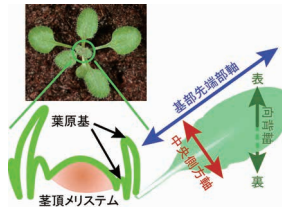


図1 葉の発生を示す模式図

写真は18日目のシロイヌナズナで、緑の円で示した場所に茎頂メリステムがある。

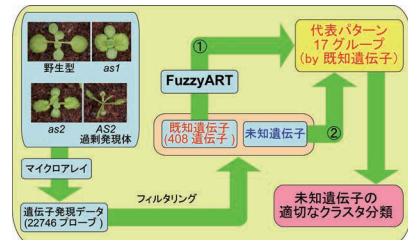


図2 KB-FuzzyART を用いたクラスタリング解析

野生型、*as1* 変異体、*as2* 変異体、AS2 過剰発現植物から RNA を調製してマイクロアレイを行った。既知遺伝子を FuzzyART 法によって17グループに分けた後、未知遺伝子（既知遺伝子を除く全遺伝子）を17グループに当てはめた。既知遺伝子のみでクラスタリングを行うため、正確で高速なクラスタリングが可能となる。

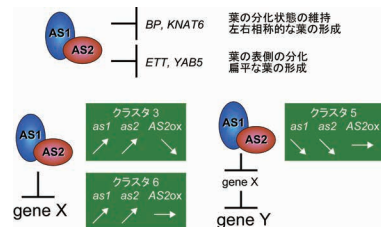
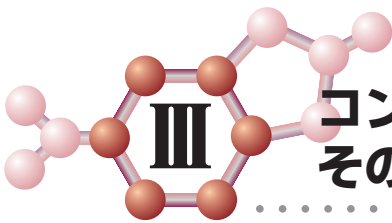


図3 解析結果と今後の展望

AS1 と AS2 は BP と *KNOT6* の発現を抑制するだけでなく、ETT や YAB5 の発現も抑制することがわかった。現在は BP を含むクラスタ（クラスタ3）やそれと相関のあるクラスタ（クラスタ6）の遺伝子を調べて AS2 の新規ターゲット gene X を探索している。また、クラスタ3や6と逆相関を示すクラスタ5の遺伝子を調べて、gene X のさらに下流の因子 gene Y を同定する必要がある。

引用文献

Hidekazu Iwakawa, Mayumi Iwasaki, Shoko Kojima, Yoshihisa Ueno, Teppei Soma, Hirokazu Tanaka, Endang Semiarti, Yasunori Machida, Chiyoko Machida, Expression of the *ASYMMETRIC LEAVES2* gene in the adaxial domain of Arabidopsis leaves represses cell proliferation in this domain and is critical for the development of properly expanded leaves, *The Plant Journal*, 51, 173-184, 2007
Hiro Takahashi, Hidekazu Iwakawa, Sachiko Nakao, Takahiro Ojio, Ryo Morishita, Satoshi Morikawa, Yasunori Machida, Chiyoko Machida, Takeshi Kobayashi, Knowledge-based Fuzzy Adaptive Resonance Theory and its Application to the Analysis of Gene Expression in Plants, *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 106, 587-593, 2008



コンデンシンが結合するシス配列とその結合の分子機構

定塚
じょうづか

勝樹
かつき

基礎生物学研究所
ゲノム動態研究部門



堀内 嵩

定塚勝樹

分裂期染色体のダイナミックな形態変化で、DNAに作用して中心的役割を果たすと考えられているのが Condensin と呼ばれる蛋白質複合体です。しかしそれが染色体の何処に、どのようなメカニズムで結合し、どのようにしてコンパクトに折りたたむのか、未だ不明の点が多くあります。私たちは出芽酵母をモデル生物として、染色体の任意の場所に挿入してもそこに Condensin が特異的に結合するシス配列と、その結合に必要な一連の蛋白質を同定しました。

リボソーム RNA 遺伝子 (rDNA) リピートにある複製フォーク阻害部位 (RFB) では、Fob1 が結合して、RNA ポリメラーゼ I による転写と逆向きに進む複製フォークの進行を阻害します。Fob1 はまた、リピート間で組換えを誘発してそのコピー数調節に働いてだけでなく、細胞周期制御にも関与する事が近年報告されました。私たちは最初 Fob1 が秘める役割を探る為、*fob1* 変異と合成致死性を示す変異体を複数単離して解析を始めたところ、それら全てが Condensin を構成する遺伝子の変異であることが判り、Fob1 と Condensin の遺伝的な相互作用が明らかとなりました。その後の解析から、Condensin は Fob1 依存的に RFB に局在する事が判りました (図1)。今回、染色体上から rDNA リピートを完全に欠失した細胞 (生育に必要な rRNA は人工的にプラスミドに載せた rDNA から転写される) を使い、染色体上の任意の場所に RFB を挿入しても、Condensin はそこに Fob1 依存的に特異的に結合する事が明らかとなり、RFB は Condensin のクロマチン結合のシス配列として機能する事が判りました。では、どのようなメカニズムで結合するのでしょうか。Condensin と合成致死性を示す変異体を多数単離し、その一部を解析したところ、Fob1 と相互作用して RFB に結合する事が報告されている3つの蛋白質をコードする遺伝子の変異がそれぞれ Condensin と合成致死性を示す事を見出しました。これら3種の蛋白質全てが、Condensin の RFB 結合に必須である事が明らかとなり、さらにそれら3つの蛋白質と Condensin、および Fob1 との間に物理的相互作用がある

事を見出しました。この事から、Condensin は Fob1 を含む少なくとも4つのリクルーター蛋白質間との物理的相互作用によって、RFB にリクルートされると説明できます (図2)。遺伝学会の翌10月、 $\Delta fob1$ では分裂期で rDNA の凝縮欠損になる事が他のグループから報告されました (Waples et al., Mol. Biol. Cell, 2008, Oct. in press)。恐らく私たちの見つけた Fob1 による Condensin の RFB へのリクルート機構が実際に rDNA 領域の凝縮に貢献していると考えられます。今後、シス配列としての RFB と、その結合に必要な因子を“ツール”として、染色体上に RFB を複数配置して Condensin 結合を人工的に制御し、そこで形成される高次構造変化の詳細を検出していきたいと考えています。

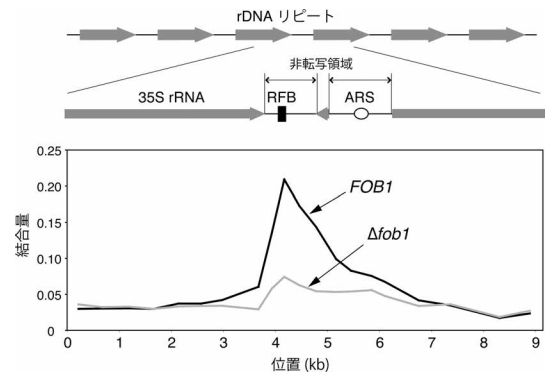


図1 rDNA 領域での Condensin の局在

FOB1⁺ 細胞で RFB を頂点とした Condensin の結合が観られる。一方、 $\Delta fob1$ 細胞では RFB での結合が著しく減少し、非転写領域での僅かな結合のみが観られる。

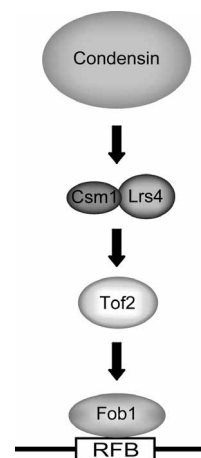
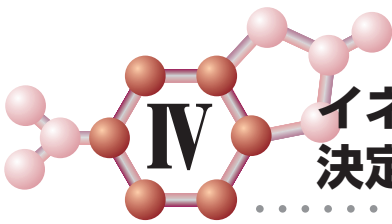


図2 RFB に階層的に結合するリクルーター蛋白質群による Condensin のリクルートモデル

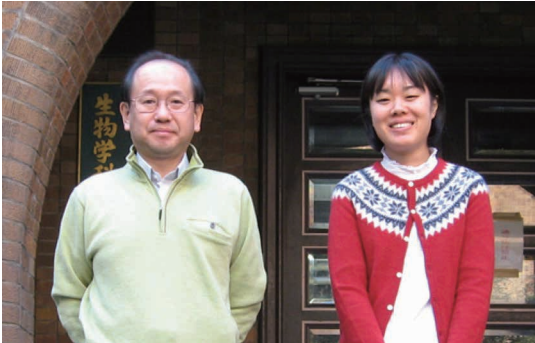
RFB に階層性を持って結合して、Condensin リクルーターとして機能する4つの蛋白質。矢印は蛋白質間相互作用および結合の階層性を示す。



イネの小穂器官のアイデンティティーを決定する新規遺伝子の解析

吉田明希子
よしだ あきこ

東京大学大学院 理学系研究科
生物科学専攻



平野博之

吉田明希子



寿崎拓哉

は護穎と内穎の基部で発現していることが明らかとなりました。以上の研究から、*G1* 遺伝子は、護穎ではたらく、外穎のアイデンティティーを抑制していると考えられます。

これまでに、護穎の進化については、本来この位置に作られるべき2つの小花が退化して、唯一残された外穎の形態が変化した器官が護穎である、という仮説が提唱されています(図2)。これまで提

唱されているイネ小穂の形態進化の仮説からすると、*G1* は外穎のアイデンティティーを抑制することにより、現在の護穎という特徴をもつ器官を分化するために、イネの進化において、リクルートされてきた可能性が考えられます。今後は、野生イネや他のイネ科植物での *G1* 遺伝子の機能解析を行なうことにより、イネ科植物の小穂の進化の過程における *G1* 遺伝子の役割を明らかにしていきたいと考えております。

花は私たちの生活に潤いをもたらしてくれるのですが、植物にとっては子孫を残すために非常に大切な生殖器官です。花は進化の過程で、新たに突然現れた器官ではありません。1790年にゲーテが、「花の各器官は葉が変形したものである」と記載して以来、花の形成メカニズムとその形態進化は興味深いテーマです。近年、真正双子葉類のモデル植物であるシロイヌナズナにおいて花の形成に関する遺伝子が明らかになりつつありますが、多様な花の形成メカニズムを包括的に理解するためには他の植物種の知見も必要です。そこで私たちは、単子葉類のモデル植物であるイネの花に着目し、その発生機構について研究を行っています。

イネの小穂には、1つの完全な小花とその外側に1対の護穎が形成されます(図1A)。護穎の形態と発生に関する遺伝子はほとんど知られていません。そこで、護穎が長くなる変異体に着目して、護穎の発生メカニズムの解明を目的として研究を行ってきました。

g1 変異体は護穎が過伸長した一因子劣性突然変異体です(図1C)。まず、この *g1* 変異体の小穂を観察したところ、外穎・内穎様の表皮細胞のような構造をもつことが明らかとなりました(図1D-G)。また、野生型の外穎、内穎、護穎の維管束数を比較した結果、*g1* 変異体の長護穎と野生型の外穎の維管束数は一致していました。したがって、これまでは *g1* 変異体の長護穎は野生型の護穎が単に伸張したものと考えられていましたが、本研究により、*g1* 変異体の長護穎は外穎化していることが強く示唆されました。次に、ポジショナルクローニング法により *G1* の候補遺伝子を同定しました。*g1* 変異体と類似した長護穎をもつ変異体を見出し、同座検定により *g1* 変異体のアレルであることを確認しました。各 *g1* 変異体の *G1* 候補遺伝子の遺伝子配列を決定した結果、いずれもアミノ酸置換や部分的欠失が起きていることが明らかとなりました。この *G1* 遺伝子は、機能未知のドメインと核局在シグナルを持つタンパク質をコードしていることが明らかとなりました。また、*in situ* ハイブリダイゼーションにより時間的・空間的発現パターンを解析した結果、*G1* 遺伝子

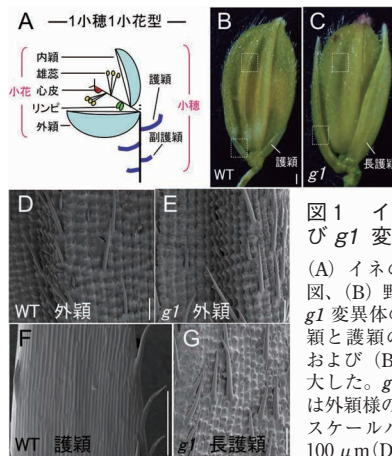


図1 イネ小穂構造および *g1* 変異体の表現型

(A) イネの小穂構造の模式図、(B) 野生型の小穂、(C) *g1* 変異体の小穂、(D-G) 外穎と護穎の表皮細胞、(A) および (B) の四角部分を拡大した。*g1* 変異体の長護穎は外穎様の表皮細胞である。スケールバー: 1 mm (B,C), 100 μ m (D-G)。

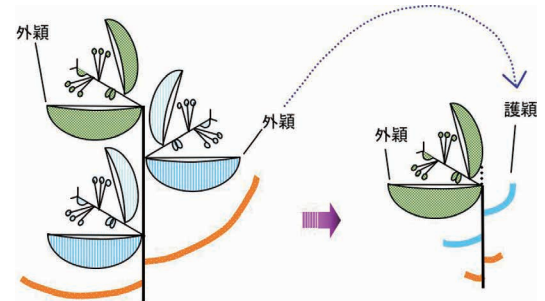
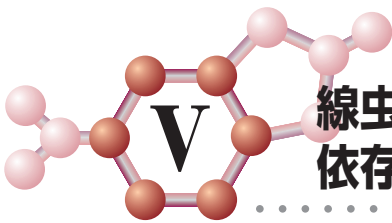


図2 護穎の発生由来のモデル図

イネの小穂は、1小穂1小花である。本来は、1小穂3小花であったものが、側生小花の2つが退化して、それが痕跡器官として残ったものが護穎であると提唱されている。しかしその詳細は全く明らかにされていない。



線虫 *C. elegans* における匂いの濃度に依存した行動変化を制御する神経回路の解明

吉田 和史
よしだ かずし

東京大学大学院 理学系研究科
生物化学専攻



飯野雄一 吉田和史 石原 健 広津崇亮

動物の嗅覚系において、匂いの感じ方は、その濃度に依存して変化することが知られている。この現象を分子、神経回路レベルで明らかにするため、我々は神経回路が比較的シンプルな線虫 *C. elegans* に注目した。線虫は、低濃度のイソアミルアルコール (Iaa) に対して誘引行動

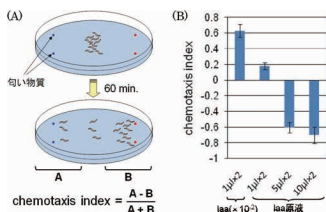


図 1

野生型線虫は誘引性の匂い物質の濃度が高濃度に変化すると、忌避行動をとるようになる。(A) は線虫の化学走性の測定に用いたプレート。

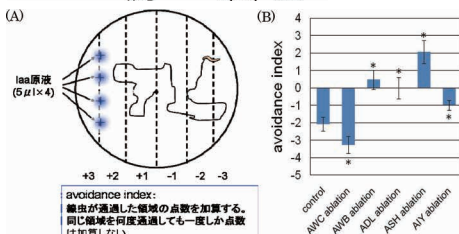


図 2

神経破壊実験により、高濃度 Iaa からの忌避行動に関わる神経を同定した (B)。(A) は神経を破壊した線虫の行動を測定する際に用いたプレートのフォーマット。(C) に高濃度 Iaa からの忌避行動を制御する神経回路モデルを示した。

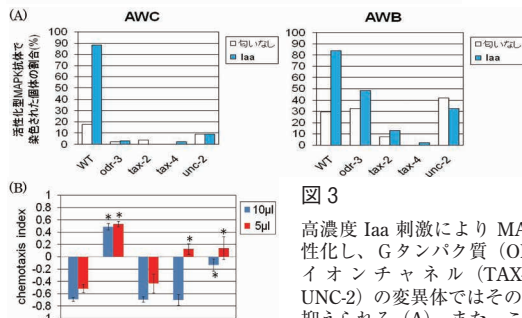


図 3

高濃度 Iaa 刺激により MAPK が活性化し、G タンパク質 (ODR-3) やイオンチャネル (TAX-2, TAX-4, UNC-2) の変異体ではその活性化が抑えられる (A)。また、これらの変異体では忌避行動が弱くなる (B)。

をとることが知られている。しかし、Iaa の濃度を原液にまで濃くすると、一度誘引行動を起こし、その後忌避行動を示す (図 1)。我々は、この低濃度では誘引性の匂い物質が高濃度では忌避行動を引き起こす現象をモデルとして、匂いの濃度による応答の変化のメカニズムの解析を行っている。

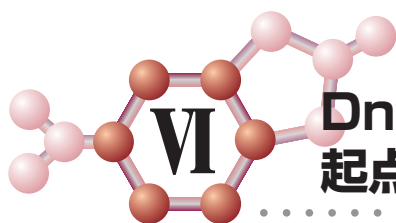
高濃度 Iaa からの忌避行動を制御する神経回路を同定するために、神経細胞を破壊した線虫の高濃度 Iaa への応答を観察した。すると、低濃度 Iaa を受容する感覚神経 AWC を破壊すると忌避行動が強くなった。また、感覚神経 ASH, AWB, ADL を破壊すると忌避行動が弱くなること、その中でも特に ASH が重要な役割を果たすことが明らかとなった。さらに、AWC からシナプス入力を受ける介在神経 AIY を破壊すると忌避行動が弱くなったことから、AWC が AIY の働きを抑制する可能性が示唆された (図 2)。

さらに我々は、高濃度 Iaa からの忌避行動に関わる分子メカニズムの解析も行った。以前の報告により、低濃度 Iaa 刺激では、感覚神経 AWC で Ras-MAPK 経路が活性化することが知られている (Hirotsu et al, 2000)。そこで、高濃度 Iaa についても同様に、抗活性化型 MAPK 抗体を用いた免疫組織染色実験により調べたところ、AWC だけでなく AWB においても MAPK の活性化が見られた (図 3 (A))。匂いシグナルの伝達に関わる G タンパク質 (ODR-3) やイオンチャネル (TAX-2, TAX-4, UNC-2) の変異体では、AWB における MAPK の活性化が抑えられたこと (図 3 (A))、高濃度 Iaa からの忌避行動が弱くなったこと (図 3 (B)) から、AWB 感覚神経においては、高濃度 Iaa のシグナルがこれらの分子を介して下流へ伝達されることが予想される。

今後、感覚神経で受容された匂いの情報が、下流のどの介在神経、どの分子を介して伝達、統合されるのかを明らかにしていきたいと考えている。さらに、高濃度 Iaa からの忌避行動には後退運動やターンなどの方向転換が重要であると予測される。忌避行動に関わる神経を破壊した際、このような行動にどのような変化が起きるかを詳細に解析する予定である。また、本研究で注目した忌避行動は少なくとも数十分間持続することから、記憶の形成との関連も視野に入れ解析していきたいと考えている。さらに、この忌避行動は匂いの濃度変化により応答が誘引から忌避にスイッチするという点で、忌避物質に対する一般的な忌避応答とはメカニズムが異なっている可能性がある。そのような分子機構の違いを明らかにすることにより、生物の忌避行動のパリエーションやそれぞれの忌避行動の生物学的意義についても明らかにできると考えている。

参考文献

Hirotsu T, Saeki S, Yamamoto M, Iino Y: The Ras-MAPK pathway is important for olfaction in *Caenorhabditis elegans*. *Nature* 404: 289-293, 2000



DnaA による 2 重鎖開裂における複製 起点の最小機能構造

尾崎 省吾
おざき しょうご

九州大学大学院 薬学研究院
分子生物薬学分野



尾崎省吾

片山 勉

ゲノム複製は複製開始点の2重鎖 DNA を1本鎖に開裂することで開始される。この反応は複製開始蛋白質が開始点で形成する動的な高次複合体中で起こる。これが引き金となり、複製マシンの装着から新生鎖合成に至るまでの一連の反応が連続して起こる。我々は2重鎖 DNA の開裂メカニズム解明をめざし、開始蛋白質 DnaA が形成する高次複合体を研究している。

大腸菌ゲノムの複製開始は開始点 *oriC* と ATP 結合型 DnaA とで形成される高次複合体中で起こる。大腸菌 *oriC* の機能構造は DnaA 多量体形成のための DnaA 結合領域と2重鎖 DNA の開裂が起こる DUE (duplex unwinding element) とからなる(図1)。DnaA 結合領域は DnaA が特異的に結合する配列 (DnaA box) を複数有しており、それぞれ方向や DnaA との親和性が異なる。ADP 結合型 DnaA と異なり、ATP 結合型 DnaA は共同的に *oriC* 結合し、DnaA・*oriC* 高次複合体の構造変化を促す。これにより DUE 領域内で2重鎖 DNA が開裂する。生じた1本鎖化 DUE は ATP 結合型 DnaA 複合体と特異的に相互作用する⁽¹⁾。これが開裂構造を安定化し、DNA 複製開始を促すと思われる。この DUE 開裂や DUE 結合を促す DnaA 複合体形成には *oriC* 内の DnaA box の位置や配向性が重要と思われるが、それらがどのように機能しているかは不明である。

我々は DnaA による2重鎖開裂を制御する *oriC* 機能構造の普遍特性を理解するために、進化的に細胞の起源に近いとされる超好熱性真正細菌 *T. maritima* 由来の DnaA オースログ (*tmaDnaA*) が形成する開始複合体の解析を行ってきた⁽²⁾。*tmaDnaA* は試験管内で ATP 結合に依存して DUE を開裂する。この反応は最小149 bp の *T. maritima* *oriC* 領域 (*tma-oriC*) 内で起こる(図1)。*tma-oriC* は DnaA box を5つだけ含んでおり、大腸菌 *oriC* よりも単純なメカニズムで DnaA 多量体が形成されることが予想された。そこで今回、我々は個々の DnaA

box の開始複合体形成における役割を解明するため、*tma-oriC* 内の DnaA box にそれぞれ変異を導入した。構築した *oriC* 変異体を用いて DnaA 多量体の活性を評価した結果、*oriC* 変異体は i) DUE 開裂と1本鎖化 DUE 結合とが欠損するもの ii) DUE 開裂特異的に欠損するものに分類された。その他の結果も総合すると、5つの DnaA box にはそれぞれ固有の役割があり、それらが協調して DnaA による DUE 開裂や結合を制御すると示唆される。

我々はすでに個々の DnaA box の役割についての要所を捉えており、今後英文ジャーナルへの投稿を進める予定である。真正細菌の *oriC* 機能構造は基本的に類似している。ゆえに *tma-oriC* の最小機能構造を基盤とし、*oriC* 開裂のための普遍メカニズムを提唱できると考えている。

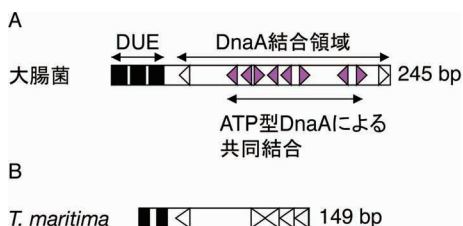
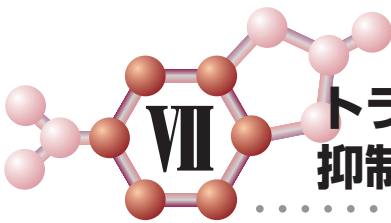


図1 *oriC* の機能構造

A: 大腸菌の最小 *oriC* 領域。DUE 領域内には AT に富む配列 (黒い四角形で示す) が存在する。arrow head は DnaA box の位置と配向性を示す。ATP 結合型 DnaA による共同的 *oriC* 結合はグレーの DnaA box 上で起こる。
B: *T. maritima* の最小 *oriC* 領域 (*tma-oriC*)。大腸菌 *oriC* と同様に DUE 領域と DnaA 結合領域とが存在する。DnaA 結合領域内には DnaA box が5つだけ存在する。

参考文献

- (1) Ozaki et al. (2008) J. Biol. Chem. 283: 8351–8362
- (2) Ozaki et al. (2006) Genes Cells 11: 425–438



トランスポゾン *CAC1* の転移を抑制するクロマチン因子

三浦明日香
みうら あすか

国立遺伝学研究所 総合遺伝研究系
育種遺伝研究部門

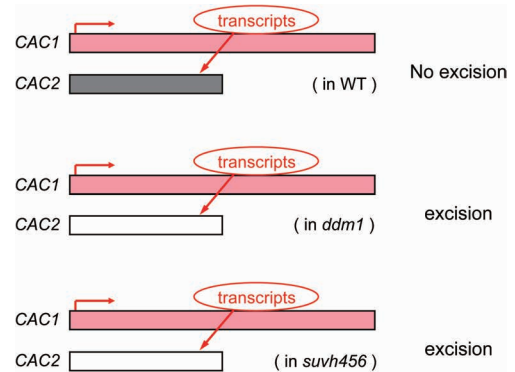


照井明子

角谷徹仁

三浦明日香

DNA のメチル化が低下すると多くのトランスポゾンが転写されますが、それが必ずしも転移に結びつくわけではありません。ほとんどのトランスポゾンは配列に蓄積された変異のために、転写が活性化する場合でも転移しないと考えられます。では、配列が十分に保存されていれば、転写がおこることで転移を誘導できるのでしょうか。シロイヌナズナの DNA 型トランスポゾン *CAC1* は、野生型では全く転移しませんが DNA 再構成因子の変異体 *ddm1* および DNA メチル化酵素の二重変異体 *met1-cmt3* では高頻度で転移することが分かっています (1)、(2)。これらの変異体では DNA のメチル化が低下し、自律型コピー *CAC1* の発現、転移とも観察されますが、非自律型コピーである *CAC2* は *CAC1* と共存したときのみ転移します。このしくみを利用して、*ddm1* で活性化した *CAC1* と活性化しない野生型由来の *CAC2* を共存させ、*CAC2* の転移がおこるかどうか調べることで、転写抑制の解除が転移の十分条件となりうるかを検討しました。いったん *ddm1* 突然変異下で転移能を得た *CAC1* は、*DDM1* 遺伝子座を交配により野生型に戻しても転移し続けます。しかしこのとき共存している野生型由来 *CAC2* の転移は検出されず、その子孫でもやはり転移はみられませんでした。この *CAC2* の末端部を調べると DNA メチル化が低下している一方で、ヒストンの修飾は野生型と同じパターンを維持していました。そこで実際にヒストンの修飾が *CAC2* の転移抑制に関与するかどうかを調べるために、ヘテロクロマチンの指標であるヒストン H3K9 のメチル化付加酵素 (SUVH4, 5, 6) の変異体で同様の実験を行ったところ、活性化された *CAC1* と共存する *suvh456* 三重変異下の *CAC2* では転移がみられ、世代を経るとその頻度が上昇しました。今回の実験では、ヒストンの修飾がトランスポゾン配列の転移を直接的あるいは間接的に抑制するシスの因子である可能性が示唆されました。エピジェネティックな修飾が転写の抑制以外にも働いており、ゲノム動態を制御する重要な役割を担っていると考えています。

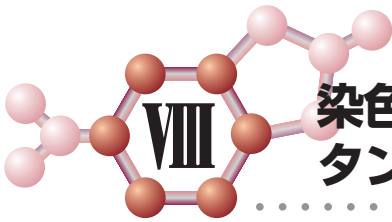


図

活性型 *CAC1* と共存する *CAC2* の転移を調べた。*CAC2* は内部に欠失があり単独での転移はみられず、*CAC1* と共存してはじめて転移する。*ddm1* 変異下で活性化された *CAC1* は、図に示す各条件下でもその転移能を維持し続けている。転移の有無は、元の座位からトランスポゾンが切り出されるかどうかで確認した。*ddm1* 変異下および *suvh456* 変異下で *CAC2* の切り出しがおこるが、一方で野生型条件下では検出されず、世代を経てもやはり *CAC2* の転移は観察されなかった。

文献

- (1) Miura, A. *et al. Nature* 411, 212-214 (2001).
- (2) Kato, M. *et al. Curr. Biol.* 13, 421-426 (2003).



染色体 DNA の複製開始期に形成される タンパク質複合体の解析

平井
ひらい

和之
かずゆき

国立遺伝学研究所
微生物遺伝研究部門



荒木弘之
平井和之

村松佐知子

われわれは、真核生物における染色体 DNA の複製開始機構を分子レベルで明らかにする目的で、出芽酵母を用いた研究に取り組んでいます。遺伝学的スクリーニングから、既に複製開始に必要な多くの因子が同定されており、現在、これら因子の細胞内での挙動を、タンパク質間相互作用の観点から解析しています。

染色体 DNA は、1 細胞周期につき 1 回だけ複製されることが重要です。これは、図 1 に示すように、2 段階に制御されています。サイクリン依存性キナーゼ (CDK) と Cdc7 キナーゼの活性が低い M 期後期から G1 期において、染色体の複製開始領域には pre-Replicative Complex (pre-RC) と呼ばれるタンパク質複合体が形成されます。一方、活性が上昇する G1 後期から S 期において、新たな pre-RC 形成は抑制されます。しかしそのとき、他の多くの複製因子が複製開始領域へ集合し、2 本鎖 DNA 開裂と DNA 複製の活性を持つ複製装置が組立てられると考えられています。複製開始に必要な反応として、CDK により Sld2 と Sld3 の 2 タンパク質がリン酸化され、それぞれ、Dpb11 タンパク質の C 末と N 末側の BRCT ドメインへ結合することが知られています。しかしこのタンパク質間相互作用が実際どのように複製開始を導くのか、未解決の問題です。

複製因子の挙動解析にあたり、まず細胞抽出液を用い、複製開始に必要な因子の一つ GINS に対する免疫沈降実験を行いました。GINs は、数ある因子の中でも、Dpb11、Sld2、DNA polymerase ϵ (Pol ϵ) と複製非依存的に結合することを見つけました。これは、Dpb11、Sld2、Pol ϵ 、GINs の 4 因子が、複製開始領域へ結合するよりも早い段階で複合体 [pre-Loading Complex (pre-LC) と呼ぶ] を形成していることを示唆します。この仮説を検証するため、次に精製タンパク質を用いた生化学実験を行いました。その結果、pre-LC を試験管内で再構成することができました。さらに、4 種のタンパク質の結合様式も分かりました (図 2)。即ち、Sld2 は CDK によるリン酸化依存的に Dpb11 へ結合します。さらに、

Pol ϵ は Sld2 依存的に Dpb11 と結合し、GINs は Pol ϵ 依存的に Dpb11-Sld2 複合体と結合します。

これまでの知見から、Dpb11 と Sld2 を含む Pre-LC は、リン酸化型 Sld3 と相互作用すると考えられます。今後 Sld3 を含む複製開始領域に存在する因子と Pre-LC の相互作用解析を通し、詳細な複製因子集合機構が解明されることが期待されます。

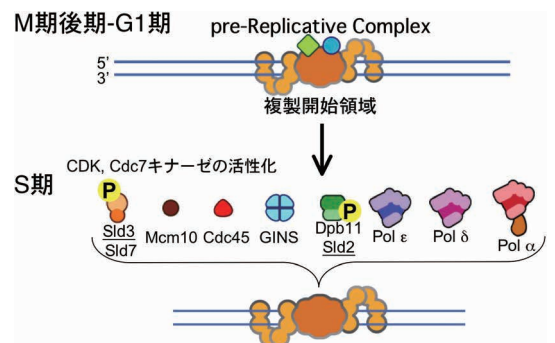


図 1 染色体 DNA の複製制御

CDK と Cdc7 活性が低い M 期後期から G1 期において、複製開始領域には複製をライセンス化する pre-Replicative Complex が形成される。活性が上昇する G1 後期から S 期において、多くの複製因子が複製開始領域へ集合する。

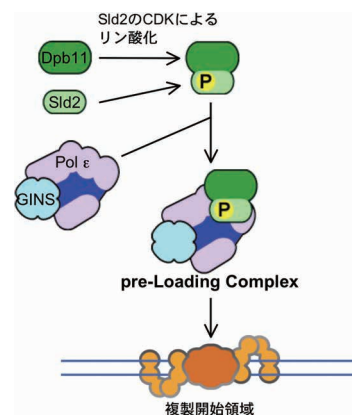


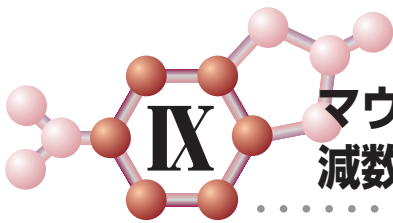
図 2 pre-Loading Complex の形成

CDK でリン酸化された Sld2 は Dpb11 との親和性を増す。Pol ϵ は Sld2 依存的に Dpb11 と結合し、GINs は Pol ϵ 依存的に Dpb11-Sld2 複合体と結合する。

関連する総説：

Botchan M. (2007) A switch for S phase. Nature 445, 272-274

田中、荒木 (2008) 真核細胞染色体 DNA 複製開始反応と CDK による制御 細胞工学 27, 985-991

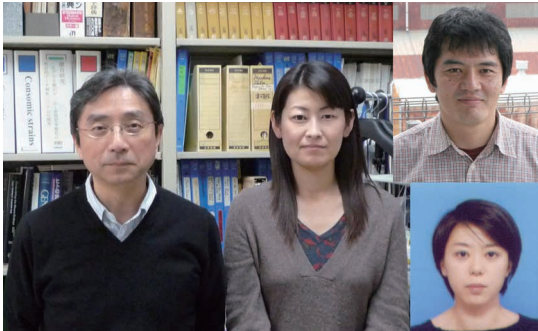


マウス亜種間における生殖隔離と減数分裂期のチェックポイント機構との関連

岡
おか

彩子
あやこ

大学共同利用機関法人 情報・システム研究機構
新領域融合研究センター



写真左 左：城石俊彦、右：岡 彩子
写真右(共同研究者、理化学研究所) 上：古関明彦 下：高田 幸

世界中に分布するハツカネズミ *Mus musculus* には、*domesticus*, *musculus*, *castaneus*, *bactrianus* などの亜種が知られています。また、日本産の *molossinus* 亜種は、*musculus* に *castaneus* のゲノムが混ざってできたハイブリッドです(図1)。このうち、*domesticus* と *musculus* は、ヨーロッパにおいて生息地が一部重なっており、交配による遺伝子交換がみられますが、遺伝的な距離が大きいためには繁殖個体には繁殖障害がおこります。このような生殖隔離が不完全な亜種同士は種分化の研究対象として適しています。さらに *M. musculus* は、亜種ごとの近交系がすでに確立されているため実験室で容易に交配実験を行うことが可能であり、亜種のゲノム情報もすでに詳細に調べられているので、種分化のモデル動物として優れています。私たちの研究室では、ゲノムの大部分が *domesticus* 由来である実験用系統「C57BL/6J」と、この系統と交配すると繁殖障害のある雑種が生まれる *molossinus* 由来の「MSM」系統を使って研究をしています。私たちは、C57BL/6J 系統の遺伝的背景に MSM 系統の X 染色体を導入した B6-ChrX^{MSM} 系統で、

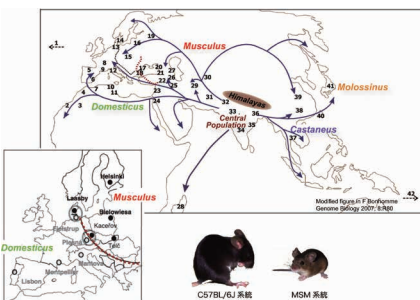


図1 ハツカネズミの亜種の世界分布

上の地図は主な亜種の世界分布を示す。左下の図はヨーロッパにおける分布を示す。図中の点線(赤)は *domesticus* と *musculus* が同時に生息する地帯を示しており、ハイブリッドゾーン(交雑帯)と呼ばれる。下の写真は、研究に用いた C57BL/6J 系統と MSM 系統。

雄に重度の繁殖障害がみられることを発見し、X染色体がこの生殖隔離に重要であると考えて研究を行ってきました。

雑種個体にみられる繁殖障害はヘテロガメティックな性に多く、これは発見者の名前から「ホールデンの法則」と呼ばれています。B6-ChrX^{MSM} 系統も例外ではなく、雄で精巣が小さくなり最終的な精子産生量が減少するばかりでなく、精子にも機能障害があり受精できません。精巣が小さくなる表現型は、生殖能力が低下した雑種に多くみられる特徴で、減数分裂期の異常に起因するものが多いことから、B6-ChrX^{MSM} 系統の減数分裂期の表現型について調べました。すると、B6-ChrX^{MSM} は、減数分裂期へ移行する生殖細胞の数が極端に減少し、また、減数分裂期に入った生殖細胞も、相同染色体間の対合が異常なために減数第一分裂前期のパキテン期で細胞周期が停止し、アポトーシスによって除去されることが分かりました(図2)。酵母などの研究から、対合に異常がある場合に細胞周期の進行を制止するチェックポイント機構がこの時期に存在することが知られており、哺乳動物においても同様のシステムがあるだろうと予想されています。他にも繁殖障害を持つ様々な組み合わせの(亜)種間雑種を使って調べたところ、いずれの雑種においても減数分裂開始時、減数第一分裂前期、減数第一分裂中期の三カ所に存在するチェックポイントのいずれかで細胞周期のアレストが起こっており、生殖細胞が減少するという共通点が見つかりました(図3)。本来、正常な細胞分裂プロセスをモニターするためのチェックポイント機構ですが、種間雑種においては、異なる(亜)種由来のアリルが混ざって遺伝子発現の揺らぎが生じたとき、細胞周期アレストを引き起こす可能性が高いことが分かってきました。今後はこの現象の分子メカニズムを追っていきたいと思っています。

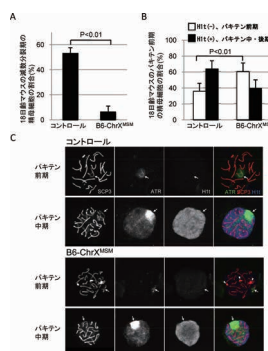


図2 B6-ChrX^{MSM} 系統の減数分裂期における異常

B6-ChrX^{MSM} 系統は、減数分裂に移行する生殖細胞が極端に少ない(図A)。また、減数分裂に移行した後も、パキテン期の途中で細胞周期がアレストされる細胞が多くみられる(図B)。パキテン期の細胞周期アレストの原因は、対合部に形成されるシナプトネマ複合体(SCP3抗体で示す)の凝集などの異常(図C矢頭で示す)が原因と考えられる。図中矢印は性染色体の位置を示す。H1tタンパクはパキテン期中期以降から発現する。

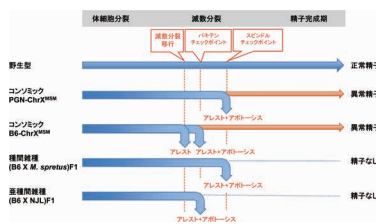
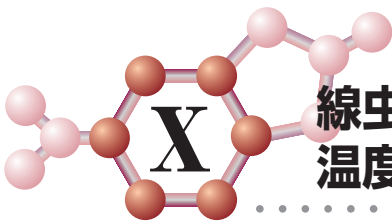


図3 (亜)種間雑種にみられる減数分裂期の細胞周期アレスト

野生型以外はすべて繁殖障害を示す雑種。

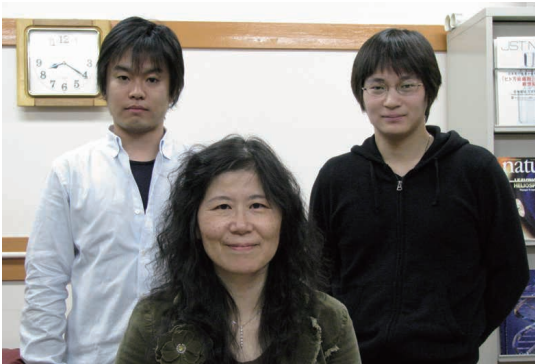


線虫 *C. elegans* における温度受容から温度記憶への変換に関する転写連動モデル

杉
すぎ

拓磨
たくま

名古屋大学 大学院理学研究科
生命理学専攻



杉 拓磨

森 郁恵

西田征央

多くの動物は、外界からの刺激を受け、これを記憶し、行動に移します。脳神経科学の分野において、動物の刺激受容や、記憶形成のメカニズムの解明は、重要な課題の一つです。私は、大学院博士課程の間、主に、X線結晶構造解析法を利用したシナプス構成タンパク質の構造解析を通じて、この分野の研究を行っていました。X線結晶構造解析は、ダイナミックな分子の変化を可視化できることから、ある現象の裏に潜む分子メカニズムを解析するための手法として、非常に優れたツールの一つです。しかしながら、同時に、動物の高次神経機能のような複雑な現象を調べるためには、個体、細胞レベルでの機能的な解析の技術の習得も必要不可欠であることを痛感していました。そんな折、当研究室で、GFPで標識された線虫 *C. elegans* が、動く様子を初めて見て、大きな衝撃を受けました。生きたままの動物個体の中で、人為的操作により一つの分子が標識できるモデル動物としての *C. elegans* の有用性や、その美しさは、私に鮮烈な印象をもたらしました。

線虫 *Caenorhabditis elegans* は、神経系がわずか302個のニューロンからなり、全ニューロン間の接続が明らかになっています。*C. elegans* はこれらの神経系を駆使して、温度走性行動という記憶に基づいた行動を行います。温度走性行動とは、一定の「温度」で、「えさ（大腸菌）」の存在する条件で飼育された *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、23℃で餌の存在下で飼育された *C. elegans* を、新たな温度である17℃で飼育すると、約4時間で、新たな温度17℃の記憶を獲得し、可塑的に行動を変化させ、温度勾配上において17℃付近へ移動するようになります（図2）（2）。このような行動の性質から、*C. elegans* の温度走性行動は、温度受容と温度記憶のメカニズムを解析することに適したモデル系と考えられます（3、4）。

これまで、動物の刺激受容から記憶形成へのメカニズムについては、ショウジョウバエ、アメフラシから哺乳類に至るまで、多くの研究が行われており、シナプス説

や転写を介したメカニズムなど様々なメカニズムが提唱されてきました。それらの中でも、私は、現在、転写調節の重要性に着目し、*C. elegans* の温度記憶の獲得過程に、マイクロアレイ解析を応用し、ゲノムワイドな解析を行っています。解析の結果、*max-1*（アクソンガイダンス因子）や *gpa-7*（三量体型Gタンパク質）など79の遺伝子に、有意な変動が見られました。これらの遺伝子と上流の転写調節因子を個体、細胞、分子レベルで包括的に解析することにより、温度走性行動のメカニズムの解明を目指しています。

謝辞：本BP賞の研究は、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。

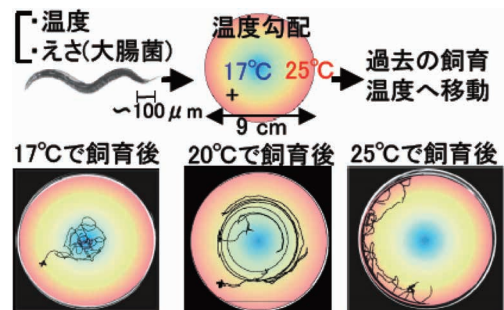


図1 *C. elegans* の温度走性行動

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。

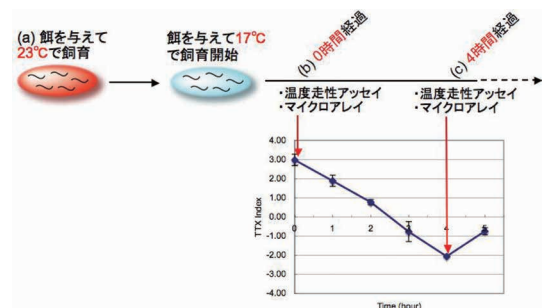
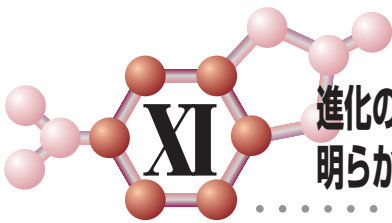


図2 温度シフトアッセイとマイクロアレイ解析の概略図

温度走性アッセイのグラフにおける TTX Index は値が大きいほど、高温23℃に移動した個体の割合が高く、値が小さいほど、低温17℃に移動した個体の割合が高いことを示す。Index が0に近い場合、20℃に移動した個体の割合が高いことを表す。

文献

- (1) Mori & Ohshima, *Nature* 376, 344, 1995.
- (2) Mohri et al., *Genetics*, 169, 1437, 2005.
- (3) Kuhara et al., *Science* 320, 803, 2008.
- (4) Kodama et al., *Genes & Development* 20, 2955, 2006.

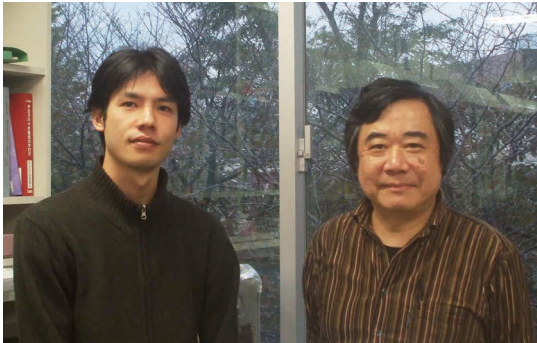


進化の単位が ORF では無い場合：同種内多数ゲノム比較から明らかになったパラログ遺伝子タンデム・クラスターの再編進化機構

鶴
つる

剛史
たけし

東京大学大学院 新領域創成科学研究科
メディカルゲノム専攻



鶴 剛史

小林一三

ゲノム解読の進展によって、同種内のような近縁複数の全ゲノム配列を比較することが可能となった。一つ的全ゲノム配列は流動的なゲノムのスナップショットに過ぎないが、それらを何枚もつなぎ合わせて比較すれば、その再編・進化の過程を再構築し、時には分子機構を推定することもできる。

黄色ブドウ球菌はこうした近縁ゲノム比較に適している。病原細菌として重要なこの細菌では、10を超える全ゲノムが解読されていた。これらには、多様な病原性遺伝子が「動く遺伝子」であるファージやゲノミック・アイランド上に存在し、株間の多様性の大部分を担っていた。あるゲノミック・アイランドでは、病原性関連遺伝子のホモログがタンデムに並んだパラログ・クラスターが複数存在し、それらのコピー数や各ホモログの配列には株間で著しい多型が見られた。我々は、複数株でそれらの配列を比較し、再編・進化の分子機構を推定してきた¹⁾。さらに今回その中で、*lpl* タンデム・パラログ・クラスターにおいて、興味深い遺伝子多様化のパターンを発見した²⁾。

これらのパラログ遺伝子では、ORF の内部に塩基配列レベルでよく保存された領域が存在し、この領域の5'側および3'側が可変領域となっていた。ゲノム間での比較の結果、この中央保存領域間で相同組換えが、この領域の再編に関与していたことが示唆された。

中央保存領域での相同組換えに伴い交叉が生じると、「1つの ORF の5'-可変領域」と「その3'-可変領域」の組み合わせが交換されるが、「ある ORF の3'-可変領域」と「隣接する下流の ORF の5'-可変領域」の組み合わせは保存されと考えられる(図1)。実際、5'-可変領域と3'-可変領域それぞれの系統樹を作成し比較したところ、「ある遺伝子の3'-可変領域」と「その下流に隣接する遺伝子の5'-可変領域」という組み合わせで、配列が保存しているいくつかのグループの存在が見出された。一つの遺伝子の5'-可変領域と3'-可変領域とでは、このような配列の保存は見られなかった。その様子をマップ上で図2に示す。

交叉の繰り返しは、ORF を単位としてみると2つの可変領域を頻繁にシャッフルし、またゲノム間で見られる遺伝子順序やホモログ・セットの多様性を産み出す。この過程で、隣接する遺伝子をまたいだ「3'可変領域—遺伝子間領域—5'可変領域」という単位が保存されてきたと考えられる。

ある遺伝子と相同な遺伝子を探そうとして相同性検索をかける場合、単純に ORF (= 遺伝子) の配列を Query としてしまいがちである。進化的に保存された配列を見つけようという相同性検索の原理に基づく、我々が発見した遺伝子群の場合は、ORF ではなく、隣り合う ORF にまたがった領域を単位として進化の過程を辿るべきであろう。

今後、DNA シークエンシングのイノベーションによって多数の近縁ゲノム配列の比較が可能になり、予想もしなかったゲノム進化の実態がさらに現れてくるだろう。このような比較アプローチは、メカニスティックなアプローチを相補して、ゲノムのダイナミックな動きを明らかにしていくだろう。

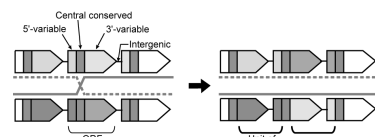


図1 ORF 内部の保存配列を介した相同組換えによる多様化モデル

相同組換えに伴う交叉によって、一つの ORF の5'-可変領域と3'-可変領域の組み合わせが交換されるが、ある ORF の3'-可変領域と隣接する下流の ORF の5'-可変領域の組み合わせは保存される。

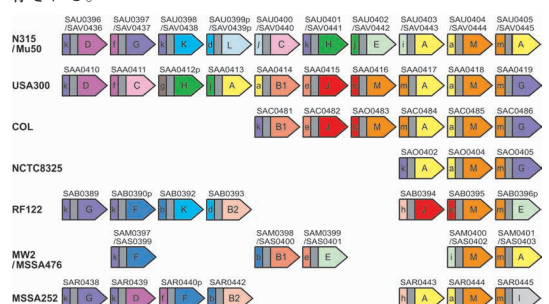


図2 各株における *lpl* タンデム・パラログ・クラスターのマップ

アルファベット (5'-可変領域 (小文字) および 3'-可変領域 (大文字)) はそれぞれの配列相同性に基づく分類群。隣接する二つの遺伝子の3'部分と5'部分という組み合わせで、アルファベットで表した分類群のペアが保存しているのに対し、ORF を単位とした5'側と3'側のペアは保存していない。

文献

- (1) Tsuru, T., Kawai, M., Mizutani-Ui, Y., Uchiyama, I. & Kobayashi, I. *Mol. Biol. Evol.*, 23, 1269-85 (2006).
- (2) Tsuru, T. & Kobayashi, I. *Mol. Biol. Evol.*, 25, 2457-73 (2008).