

若手研究者が語る

21世紀の遺伝学 (VI)



日本遺伝学会第82回大会 Best Papers 賞

I

アブラナ科植物の自家不和合性でみられるエピジェネティックな遺伝子発現制御

○樽谷芳明^{1,2}、柴 博史²、岩野 恵²、柿崎智博³、鈴木 剛⁴、渡辺正夫⁵、磯貝 彰²、高山誠司²

(¹国立遺伝学研究所 育種遺伝研究部門、²奈良先端科学技術大学院大学 バイオサイエンス研究科、³(独)農業・食品産業技術総合研究機構 野菜茶業研究所、⁴大阪教育大学 教養学部 自然研究講座、⁵東北大学大学院 生命科学研究科)

II

ルソンメダカの性決定遺伝子 *Gsd^f* は性分化時期の高い発現を獲得したことによって *Dmy* の性決定機能を奪った

○明正大純¹、成瀬 清²、濱口 哲¹、酒泉 満¹

(¹新潟大・院・自然科学 ²基生研・バイオリソース)

III

次世代版ジーンターゲットングシステムに基づく遺伝子間相互作用解明のためのモデルマウスリソース

○権藤洋一、福村龍太郎、村田卓也、牧野 茂

((独)理化学研究所・バイオリソースセンター)

IV

リポテイコ酸欠損細胞における ECF シグマ因子の活性化

○橋本理尋、谷村 遊、神谷雄介、松岡 聡、原 弘志、朝井 計、定家義人、松本幸次

(埼玉大学大学院 理工学研究科 理工学専攻)

V

海産固着動物ホヤの化学ストレス応答機構の解析

○安住 薫^{1,*}、神村章子^{1,*}、鏡 良弘²

(¹北海道大学大学院 薬学研究科生化学研究室、*現北海道大学 環境健康科学研究教育センター、²(株)エコジェノミクス)

VI

siRNA によるシロイヌナズナ熱活性型レトロトランスポゾンの世代間転移制御

○伊藤秀臣、²Hervé Gaubert、²Etienne Bucher、³Marie Mirouze、⁴Isabelle Vaillant、²Jerzy Paszkowski

(¹北海道大学 理学院 生物科学部門 生物科学分野、²University of Geneva、³Université Montpellier、⁴Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS))

VII

ハツカネズミの毛色関連遺伝子 *Mc1r* 周辺領域の塩基多様度の減少

○児玉紗也香、布目三夫、森脇和郎、鈴木 仁

(北海道大学 環境科学院 生物園科学専攻)

VIII

ヒトの薬物・化学物質に対する代謝システム構築過程の解明— 霊長類 *CYP2D* サブファミリーの分子進化—

○安河内彦輝、颯田葉子

(総合研究大学院大学 先端科学研究科)

IX

C. elegans において *ttx-4* 変異体が示す好熱性異常を抑圧する変異体の解析

○古田智敬、久原 篤、森 郁恵

(名古屋大学大学院 理学研究科 生命理学専攻)

X

慢性的な低線量紫外線照射 (CLUV) による突然変異誘導のメカニズム

○春田奈美、久保田佳乃、菱田 卓

(大阪大学 微生物病研究所)

XI

PCNA のユビキチン化の分子機構

○増田雄司¹、鈴木美紀¹、河合秀彦¹、菱木麻美²、橋本 博²、鈴木文男¹、神谷研二¹

(¹広島大学 原爆放射線医科学研究所、²横浜市立大学大学院 生命ナノシステム科学研究科)

XII

高い突然変異率が哺乳類集団へ及ぼす影響と新たな表現型の創出

○内村有邦¹、日高裕子¹、三浦郁生²、若菜茂晴²、八木 健¹

(¹大阪大学 生命機能研究科、²マウス表現型解析開発チーム (独)理化学研究所・バイオリソースセンター)

GSJ コミュニケーションズ

Proceedings of the Society

平成23年(2011) 1月 日本遺伝学会幹事会 編集

目 次

BP 賞に寄せて

BP 賞選考委員会委員長 岩崎 博史

3

BP 賞受賞講演の紹介

I アブラナ科植物の自家不和合性でみられるエピジェネティックな
遺伝子発現制御

樽谷 芳明

4

II ルソンメダカの性決定遺伝子 *Gsdf^Y* は性分化時期の高い発現を
獲得したことによって *Dmy* の性決定機能を奪った

明正 大純

5

III 次世代版ジーンターゲットングシステムに基づく遺伝子間相互作用
解明のためのモデルマウスリソース

権藤 洋一

6

IV リボテイコ酸欠損細胞における ECF シグマ因子の活性化

橋本 理尋

7

V 海産固着動物ホヤの化学ストレス応答機構の解析

安住 薫

8

VI siRNA によるシロイヌナズナ熱活性型レトロトランスポゾンの
世代間転移制御

伊藤 秀臣

9

VII ハツカネズミの毛色関連遺伝子 *Mc1r* 周辺領域の塩基多様度の減少

児玉紗也香

10

VIII ヒトの薬物・化学物質に対する代謝システム構築過程の解明
— 霊長類 *CYP2D* サブファミリーの分子進化 —

安河内彦輝

11

IX *C. elegans* において *ttx-4* 変異体を示す好熱性異常を抑圧する
変異体の解析

古田 智敬

12

X 慢性的な低線量紫外線照射 (CLUV) による突然変異誘導のメカニズム

春田 奈美

13

XI PCNA のユビキチン化の分子機構

増田 雄司

14

XII 高い突然変異率が哺乳類集団へ及ぼす影響と新たな表現型の創出

内村 有邦

15

BP 賞選考内規

16

BP 賞に寄せて

岩崎 博史 (BP 賞選考委員会委員長)

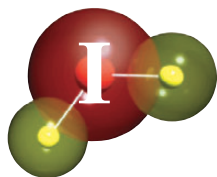
第82回北海道大学大会では、12演題の BP 賞が、選出される運びとなりました。多様性の時代にふさわしく、様々な学問分野や研究対象の演題が選ばれました。まずは、この場を借りて、受賞者の皆様には心よりお祝いを申し上げます。

第73回東京大会（2001年）に始まった BP 賞も、早いもので、今大会で丁度10回目を迎え、今や、大会のメインイベントとして、すっかり定着しました。今年度より新しい試みとして「前年度の BP 賞受賞講演から」と題してプレナリーワークショップが開催され、前年度の信州大学大会の BP 賞受賞者の中から、3名の若手研究者の発表がありました。当該年度のすばらしい成果に加え、さらに1年間の目覚ましい進展がうかがえました。本企画は大好評につき今後も継続していくことになりまして、第82回北海道大学大会で選ばれた12名の方の中から何人かの方に次回京都大会でお話ししていただきます。学会長が分野等のバランスを考えて3、4名の方にはお願いしますが、どなたが選ばれても良いように、BP 賞受賞者はしっかりこの一年研究に励んでくださいネ（上から目線、ごめんなさい）。

ところで、皆様ご存知かと思いますが、もう一度確認させてください。そもそも、この BP 賞は、「優れた研究成果を報賞し、遺伝学会の明日を築こうとする若人を鼓舞しようとするもので、21世紀の遺伝学を切り開く意欲あふれる研究を奨励し、日本の遺伝学的发展に資することを願って作られた」ものです。この Young and young-at-heart scientists の encouragement という理念は、実際に受賞した方々から多くの感謝の言葉をいただいていることから、確実にその役割を果たしています。今回もまた、受賞者の方々は encourage され、今後益々ご活躍されることでしょう。

ところが、一つ、我々の頭を悩ませている事柄があります。今回の大会に限ったことではないのですが、BP 賞推薦権利保有者（審査員）が聴講している演題数が少ないということです。つまり推薦権利保有者が大会に参加していないとか、大会にいても、あまり、聴講していないということです。その結果、極端な例では、座長以外 BP 賞推薦権利保有者が聴講していないという場合もみうけられました。そのような事例が重なりますと、本当にすばらしい演題を見過ごすことにもなりかねません。

BP 賞が、今後とも真にその役割を果たし続けていくためには、BP 賞推薦権利保有者がもっともっと積極的に演題を聴講し、そして投票することが必須です。すなわち、より多くの投票者によって素晴らしい発表であると認められるということが、young scientists にとっての励みとなり、さらに encouragement につながります。BP 賞推薦権がある方の積極的な投票を、今一度、お願い申し上げます。



アブラナ科植物の自家不和合性でみられる エピジェネティックな遺伝子発現制御

樽谷 芳明 奈良先端科学技術大学院大学
たるたに よしあき (現) 国立遺伝学研究所育種遺伝研究部門

アブラナ科植物の自家不和合性における自他識別は、 S 複対立遺伝子 ($S_1, S_2, \dots, S_n$) 上にコードされた花粉リガンド (SP11) と雌ずい受容体 (SRK) の S 遺伝子特異的な相互作用を介して行われる。この花粉リガンド SP11は、胞子体 ($2n$) の葯ターゲット組織で作られるため、花粉は通常 2 種類の S 遺伝子の形質を示すが (共優性)、 S 遺伝子の組合せによっては、優劣の関係が生じ、片側の S 遺伝子の形質しか示さない花粉が作られる場合がある。我々は、この時、劣性側の $SP11$ 遺伝子プロモーター領域が特異的なメチル化修飾を受けていることを発見したが、その分子機構は謎のままであった。

劣性 $SP11$ 遺伝子のメチル化は、CG, CHG, CHH 配列 (H は A, C, T) の全てで見られたことから、small RNA を介したメチル化機構の関与が推察された。そこで、花粉優性を示すクラス I に属する S_9, S_{12} の S 遺伝子座を調べたところ、劣性 $SP11$ 遺伝子のメチル化領域と相同な配列を含む逆位反復配列が見つかった。この領域は、クラス I に属する S_8, S_{52} からも見出された。劣性 $SP11$ 遺伝子のメチル化領域と相同な small RNA のスクリーニングにより、この領域から産出された 24nt の small RNA ($SP11$ methylation inducer; Smi) を得た。 Smi は劣性 $SP11$ 遺伝子メチル化領域と 19塩基中 18塩基の一致という高い相同性を示し (図 1)、葯ターゲット組織特異的に、劣性 $SP11$ 遺伝子のメチル化が

S_{45} - $SP11$	GTATC-----ATGTTTACGTGTGAATAGGCAATTAAGT
S_{60} - $SP11$	GTGACCCGAAATGTTTACGTGTAAATAGGCAATTAAGT
S_{40} - $SP11$	GTGTC-----ATGTTTACGTGTGAATAGGCAATTAAGT
S_{29} - $SP11$	GTGTC-----ATGTTTACGTGTGAATAGGCAATTAAGT

S_9 - Smi (クラス I)	5' AUGUUUACGUGUAAAAUAGUUACA 3'
S_{52} - Smi (クラス I)	5' AUGUUUACGUGUAAAAUAGUUACA 3'

S_{60} - Smi (クラス II)	5' AUGUUUACAGUAAAAUAGUUACA 3'
S_{29} - Smi (クラス II)	5' AUGUUUACAGUAAAAUAGUUACA 3'

図 1 Smi と劣性 $SP11$ 遺伝子メチル化領域との相同性
赤文字は、枠内での優性 Smi とのミスマッチを表す。

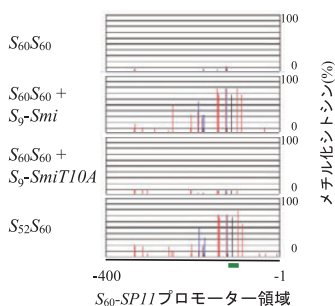


図 2 優性または劣性 Smi 導入劣性 $S_{60}S_{60}$ 株の S_{60} - $SP11$ プロモーター領域のメチル化

優性 Smi (S_9 - Smi) 導入 $S_{60}S_{60}$ 株の S_{60} - $SP11$ プロモーター領域は、 $S_{52}S_{60}$ 優性/劣性ヘテロ株と同様、顕著にメチル化されていた。劣性 Smi (S_9 - $SmiT10A$) 導入 $S_{60}S_{60}$ 株では、 $S_{60}S_{60}$ 野生株と同様、メチル化はほとんど認められなかった。黒は CG、青は CHG、赤は CHH (H は A, T, C) 配列におけるシトシンのメチル化、緑は Smi 相同領域を表す。



(上段) 樽谷 芳明 柴 博史 岩野 恵 柿崎智博
(下段) 鈴木 剛 渡辺正夫 磯貝 彰 高山誠司

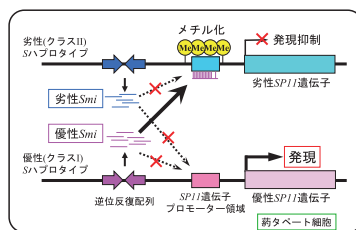


図 3 優性 Smi による優劣性機構のモデル図

優性 $SP11$ 遺伝子近傍の逆位反復配列から産出される優性 Smi により、これと高い相同性を示す劣性 $SP11$ 遺伝子プロモーター領域の特異的なメチル化が起き、その発現が抑制される。一方、優性 $SP11$ 遺伝子プロモーター領域は優性および劣性 Smi との相同性が極めて低いためメチル化は起きず、優性 $SP11$ 遺伝子は発現する。その結果、優性/劣性ヘテロ株のターゲット細胞では優性 $SP11$ タンパク質のみが生産される。

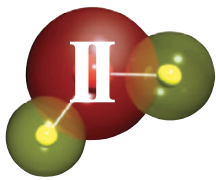
始まる前に産生されていた。

予想に反し、 Smi と類似の配列は、クラス I との組み合わせでは花粉劣性となるクラス II に属する S_{60}, S_{40}, S_{29} からも見つかった。しかし、劣性 Smi は、10番目の塩基が A になっており、メチル化領域への相同性が下がっていた (図 1)。

優性 Smi が劣性 $SP11$ 遺伝子のメチル化を引き起こせるかどうかを、形質転換アブラナを用いて解析した。優性 Smi (S_9 - Smi) ゲノム領域を導入した劣性 S ハプロタイプホモ株は、全て自家和合となっており、優性/劣性ヘテロ株と同様、劣性 $SP11$ 遺伝子の発現抑制および顕著なメチル化が認められた (図 2)。一方、 S_9 - Smi に劣性 Smi を産出するよう一塩基置換を導入 (S_9 - $SmiT10A$) し形質転換したところ、 S_9 - Smi 導入時のような変化は認められなかった (図 2)。以上の結果から、優性/劣性ヘテロ株において、優性 Smi が劣性 $SP11$ 遺伝子プロモーター領域特異的な DNA メチル化を引き起こし、劣性 $SP11$ 遺伝子の発現が抑制されることが示された (図 3)。

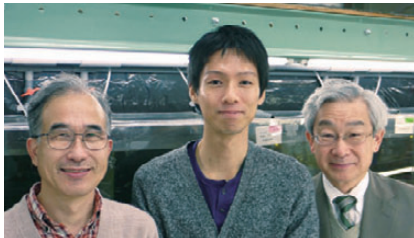
文献

Shiba et al., *Nature Genet.* 38, 297–299 (2006)
Tarutani et al., *Nature* 466, 983–986 (2010)



ルソンメダカの性決定遺伝子 $Gsdf^Y$ は性分化時期の高い発現を獲得したことによって Dmy の性決定機能を奪った

明正 大純 新潟大学大学院 自然科学研究科
みょうしょう たいじゆん 環境共生科学専攻



酒泉 満 明正大純 濱口 哲



成瀬 清

多くの脊椎動物は遺伝的に性が決まる。脊椎動物で最初の性決定遺伝子として哺乳類の SRY/Sry が同定された(1990)。その後、メダカにおいて脊椎動物で2番目となる性決定遺伝子 Dmy が同定された(2002)。分子系統樹から Dmy はメダカ、ハイナメダカ、ルソンメダカの共通祖先で生じたと考えられた(図1A)。しかし、ルソンメダカは Dmy をもたず、性染色体がメダカの常染色体である12番染色体に相同であることから、本種は新規の性決定遺伝子をもつと考えられた。そこで、ポジショナルクローニングと発現解析によってルソンメダカの性決定遺伝子を探索した結果、性分化時期に雄特異的な高発現を示す $Gsdf$ が候補遺伝子となった。

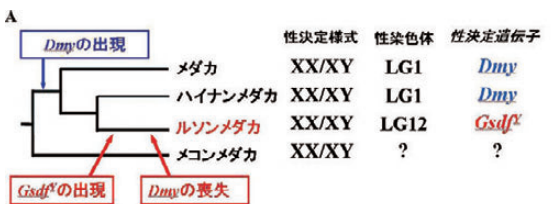


図1 メダカ近縁種の系統関係 (A) と新規性決定遺伝子 $Gsdf^Y$ 誕生のシナリオ (B)

メダカ、ハイナメダカ、ルソンメダカの共通祖先で Dmy が生じた。その後、ルソンメダカの祖先で12番染色体上の $Gsdf$ が Dmy に依存しない高発現を示す $Gsdf$ ($Gsdf^Y$) に変化し、さらに、 Dmy を失ったことで $Gsdf^Y$ が新規の性決定遺伝子となった。

$Gsdf$ は TGF- β スーパーファミリーの一員であり、ニジマスで初めて同定された魚類特有の遺伝子である。メダカでは性分化時期に雄特異的な高い発現を示すことから、 Dmy によって制御される遺伝子であると考えられる。ルソンメダカでは性染色体上に対立遺伝子として $Gsdf^Y$ (Y染色体上の $Gsdf$) と $Gsdf^X$ (X染色体上の $Gsdf$) があることが判明した。それらのアミノ酸配列は同じだが、 $Gsdf^Y$ は $Gsdf^X$ より早く発現し始め、その発現部位は生殖巣の生殖細胞を囲む体細胞だった(図2)。

続いて、 $Gsdf^Y$ をルソンメダカの受精卵に遺伝子導入したところ、導入遺伝子を持つ XX 雄個体が得られたことから、 $Gsdf^Y$ がルソンメダカの性決定遺伝子であることを示すことができた。また、メダカに $Gsdf^Y$ を導入したところ、導入遺伝子を持つ XX 雄個体が得られたことから、 $Gsdf$ より下流の性決定カスケードはメダカとルソンメダカで共通であると推測できた。

以上の結果から以下のシナリオが考えられる。ルソンメダカ、メダカ、ハイナメダカの共通祖先では Dmy が $Gsdf$ の発現を上げることで精巣分化を誘導していた。ルソンメダカの祖先において $Gsdf^Y$ が Dmy に依存しない高発現能を獲得し、その後 Dmy を失ったことによって新しい性決定遺伝子になった。つまり、下流の遺伝子であった $Gsdf$ が Dmy の性決定機能を奪ったことになる(図1B)。

今後は、 $Gsdf^Y$ と $Gsdf^X$ の発現パターンの違いを生み出している原因配列の特定を試みたい。また、他の魚種の性決定における $Gsdf$ の関与を調べることで、 $Gsdf$ が魚類の未分化な生殖巣を精巣に分化させる普遍的な遺伝子であるかどうか検証していきたい。

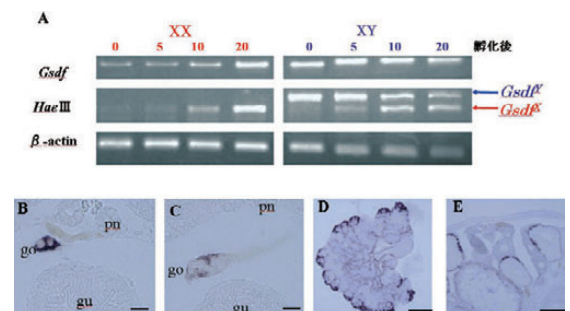
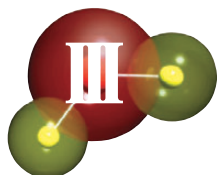


図2 A. RT-PCR による $Gsdf$ の発現プロファイルの解析
上段は未処理の $Gsdf$ 。中段は Hae III 処理によって $Gsdf^Y$ と $Gsdf^X$ を識別したもので、上のバンドが $Gsdf^Y$ 、下のバンドが $Gsdf^X$ の発現を示す。下段はコントロール。 $Gsdf^Y$ は $Gsdf^X$ より早く発現し始める。

B-E. *In situ* hybridization による $Gsdf$ の発現部位の特定
孵化後5日のXY個体(B)とXX個体(C)、成魚の精巣(D)と卵巣(E)で生殖細胞を囲む体細胞のみで発現が認められる。pnは腎管、goは生殖巣、guは腸。バーは20 μ m (B,C)、100 μ m (D,E)。



次世代版ジーンターゲットティングシステムに基づく遺伝子間相互作用解明のためのモデルマウスリソース

権藤 洋一 (独) 理化学研究所・バイオリソース
ごんどう よういち センター

我々は ENU 変異マウスライブラリーを構築し、2002年
から国内外のユーザーに利用公開している (<http://www.brc.riken.go.jp/lab/mutants/jp/index.html>)¹⁾。ライブラリーは約 1 万匹の G1 マウスに総数 3 千万の点突然変異を蓄積し 1 遺伝子あたり約 10 系統の点突然変異マウスを提供できるので、新たな逆遺伝学リソース (次世代型遺伝子ターゲットティング法²⁾) として多くのユーザーに利用されている。提供する変異マウスには発見変異の他に約 3,000 の点突然変異をゲノム全体に有するので、ユーザーは 6 世代ほどバッククロスを実施しコンジェニック化したのち表現型解析を行い、精神疾患モデル³⁾ はじめ数々の成果を発表している。コンジェニック化する理由は、発見変異の単因子効果を明確にするためだが、ヒト疾患の多くは多因子疾患であることも考慮すると、遺伝子間相互作用をもたらす修飾遺伝子の変異などが含まれているのであれば、その同定検出は理研ライブラリーの有用性を飛躍的に高める。そこで、我々は ENU 変異マウスライブラリーから得られた変異系統を、バッククロスを行うことなく、遺伝子間相互作用をもたらす変異群の同定まで簡便迅速に行える新たな利用方法を提唱する。そのためには G1 マウスゲノムに誘発された ENU 変異の網羅的検出が必須である。そこで G1 マウスの全エクソン配列上の ENU 変異の同定を試みた。SureSelect Target Enrichment System (50-Mb、Agilent) で全エクソン配列を濃縮し、次世代シーケンサー SOLiD3plus (AB) で解析した。G1 マウス 1 匹あたり、約 9 千万リードのデータを取得し、標的領域のカバー率は約 92% (5 リード以上)、平均深度 40 リードであった。得られた ENU 変異候補をサンガー法で確認した結果、67 個の ENU 変異を同定した (図 1)。コーディング変異を濃縮しているため修飾変異

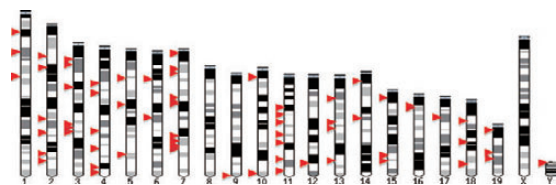
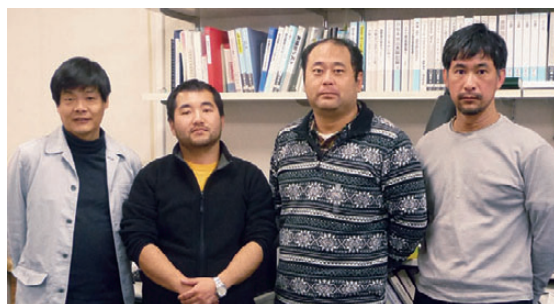


図 1 全エクソンシーケンシングで発見同定した G1 マウスの ENU 変異

全エクソン (50-Mb) を SureSelect Target Enrichment 法で濃縮後、SOLiD3plus で解析した。図に示した変異 67 個はすべてサンガー法で確認したものである。ENU 変異はオス親 (G0) から由来し、ライブラリーに蓄積した G1 マウスは全てオスのため (図 2 参照) ENU 変異は X 染色体には遺伝しない。



権藤 洋一 福村 龍太郎 村田 卓也 牧野 茂

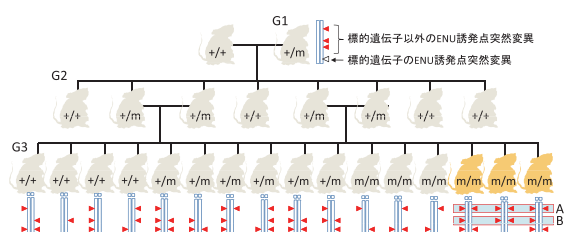


図 2 ENU 変異マウスを用いた遺伝子間相互作用解析同定法

まず、標的遺伝子に変異をもつ G1 マウスを PCR による従来法で発見する¹⁾。G1 マウスの凍結精子から体外受精法で G2 マウスを復元し、バッククロスを行うことなく直ちにヘテロ接合体どうしを交配し表現型を解析する。有用な表現型が認められた場合、全コーディング配列 50Mb の濃縮と次世代シーケンサーを用いて G1 マウスゲノムがもつコーディング変異を網羅的に検出同定する。表現型と遺伝子型の相関から遺伝子間相互作用をもたらす変異を同定する。図では、劣性修飾遺伝子 (A) や優性修飾遺伝子 (B) が含まれている例を示している。ここではスペースの都合で相同染色体 1 対のみ示しているが、実際の解析はゲノム全体で行う。コーディング変異領域を濃縮して同定された変異群を用いて解析するので機能変異はこのなかに含まれている可能性が高いが、もしノンコーディング変異上に修飾変異がある場合でも、A や B の近傍にその修飾遺伝子があるので、遺伝的距離を組換え率から推定し、さらなるターゲットシーケンシングによって同定できる。

も含め機能変異はこのなかに含まれている可能性が高い。もし、ノンコーディング上に遺伝子間相互作用を示す変異がある場合でも、全変異数は 3,000 ほどに過ぎないので、ゲノムワイドに発見したコーディング ENU 変異をマーカーとした簡単な QTL マッピングで同定できるはずである (図 2)。

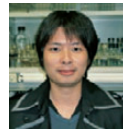
- 1) Gondo et al. Exp. Anim. 59: 537–548, 2010.
- 2) Gondo Nat. Rev. Genet. 9: 803–810, 2008.
- 3) Clapcote et al. Neuron 54: 387–402, 2007.



リポテイコ酸欠損細胞における ECF シグマ因子の活性化

橋本 理尋
はしもと みちひろ

埼玉大学大学院 理工学研究科
理工学専攻



谷村 遊

(上段) 原 弘志 神谷雄介 松岡 聡 朝井 計
(下段) 松本幸次 橋本理尋 定家義人

我々は枯草菌における膜脂質の生理学的機能の解明を目指している。膜の主要な酸性リン脂質である phosphatidylglycerol (PG) は、大腸菌やシアノバクテリアではその必須性の原因が解明されてきた。しかし一方で、枯草菌における PG は必須であり、その必須性に関わる生理学的機能は不明のままである。我々は脂質の機能を解明するため、各脂質欠損株がどのようなストレス状態にあるのかを、ストレス応答 extracytoplasmic function (ECF) シグマ因子の活性という観点から調べようと考えた。それが本研究の原点である。

我々は、脂質組成の変更などにより細胞膜に大きな変化が生じれば、膜を貫通しているアンチシグマ因子により制御されている ECF シグマ因子の活性に変化が生じるのではないかと期待した。しかし、結果は期待とは異なり、PG の減少条件下や glucolipids (GL) の欠損条件下では、 σ^M などの ECF シグマ因子が活性化したが¹⁾、総脂質の30%を占める主要な両性リン脂質である phosphatidylethanolamine の欠損株では、どの ECF シグマ因子の活性も変化がなかった。PG と GL はどちらも lipoteichoic acid (LTA) の生合成に関わっていることから、ECF シグマ因子が細胞膜の脂質組成変化に応答しているのではなく、LTA の減少や欠損に反応しているのではないかと考えた。

LTA は多くのグラム陽性細菌が保持している細胞表面の

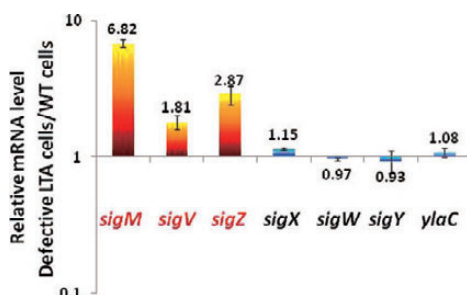


図1 LTA 欠損株における ECF シグマ因子の活性

主要構成物質であり、wall teichoic acid と共に細胞表面において負電荷の連なったマトリックスを形成することにより、多様な細胞表面機能に重要な役割を果たしている。LTA は、膜の GL に polyglycerophosphate が付加した構造になっており、この polyglycerophosphate 合成の基質として PG の glycerol-1-phosphate が利用されている。枯草菌には、LtaS と YfnI の2つの LTA 合成酵素がある²⁾。我々は、*ltaS* と *yfnI* の破壊株における ECF シグマ因子の転写量をリアルタイム RT-PCR を用いて解析した。予想は的中し、PG 減少時や GL 欠損時に活性化していた ECF シグマ因子が LTA 欠損により活性化していた (図1)。LTA 欠損株の細胞表面では、野生株に比べて負電荷が著しく減少しているため、正に荷電した何らかの因子が細胞膜に接近可能となり、それをアンチシグマが直接的、あるいは間接的に感知して ECF シグマ因子が活性化しているのではないかと考えている (図2)。

細胞表面の負電荷の減少の影響を、ストレス応答という新たな観点から調べていくことにより、細胞表面に多くの負電荷が存在することの生理学的意義がより明らかになっていくことを期待している。今後は PG、GL、LTA の細胞表面における生理学的機能の解明と、ECF シグマ因子のストレス感知のメカニズムの解明を目指す。

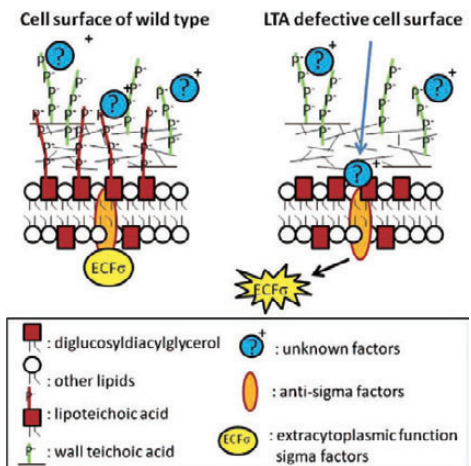
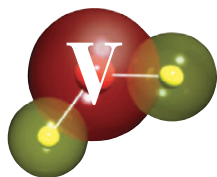


図2 LTA 欠損株における ECF シグマ因子活性化のモデル

文献

- 1) Hashimoto, M. *et al.* (2009) Induction of extracytoplasmic function sigma factors in *Bacillus subtilis* cells with membranes of reduced phosphatidylglycerol content. *Genes Genet Syst* **84**, 191–198.
- 2) Gündling, A. and Schneewind, O. (2007) Synthesis of glycerol phosphate lipoteichoic acid in *Staphylococcus aureus*. *Proc Natl Acad Sci USA* **104**, 8478–8483.



海産固着動物ホヤの化学ストレス応答機構の解析

安住 薫
あずみ かおる

薫 かおる

北海道大学大学院 薬学研究院生化学研究室
(現) 北海道大学環境健康科学研究教育
センター

科学技術の発達に伴い、現在地球上では様々な化学物質や金属含有物質が大量に製造されています。その多くは海産動物に対する安全性が確認されないまま海洋に排出され、海産動物の体内に蓄積されて様々な影響を及ぼしていると予想されています。私たちが研究対象としているホヤは世界中の海域に生息している固着型の海産無脊椎動物で、進化的に無脊椎動物から脊椎動物への移行期の動物として位置づけられています。そのため、有害物質の海産動物に与える影響や、地球規模の海洋汚染や海洋環境の変動をモニタリングする上でよい指標動物になると考えられます。

私たちはカタユウレイボヤ全遺伝子の約7割を検出できる大規模オリゴDNAマイクロアレイ（以下DNAアレイと略）を作製してその解析技術を確立しました。しかしながら、DNAアレイに搭載されている約1万種類のホヤ遺伝子の内、塩基配列情報から機能が推定できるものは半分以下でした。そのため、塩基配列情報以外のホヤ遺伝子の特徴付けが必要と考え、DNAアレイを用いて、最初、ホヤの受精卵から老成体までの19ステージにおける遺伝子発現プロファイルを解析し、1万個の遺伝子を発現の変動パターンの類似性に基づいて分類する方法（「安住式ホヤ遺伝子分類法」）を考案しました。次に、各種ストレス（化学的、物理的、生物的）に対するホヤの応答機構を明らかにする目的で、化学的ストレスとして11種類の環境化学物質（有機スズ、内分泌攪乱化学物質）および金属イオンを曝露したカタユウレイボヤ成体サンプル60個体の遺伝子発現プロファイルを解析しました。その結果、各化学物質や金属イオンの種類によって発現が亢進あるいは低下する、いわゆる「感受性遺伝子」の種類が異なること、それらの感受性



安住 薫



神村 章子



鏡 良弘

遺伝子を「安住式分類法」で分類すると各化学物質や金属イオンがホヤの生体機能に与える影響を予測することができることを見出しました。たとえば、有機スズで発現が変動する遺伝子の多くは、胚発生の後期で発現亢進する遺伝子群と変態時期に特異的に発現する遺伝子群に分類されるものでした。そのため、有機スズはホヤの胚発生と変態を阻害することが予測されました。そこで、ホヤの受精卵と幼生を用いて、胚発生・変態の大量バイオアッセイ系を開発し、有機スズのホヤ胚発生・変態に対する影響を調べたところ、有機スズは低濃度でホヤの胚発生と変態の両者を強く阻害することが明らかになりました。同様に他の化学物質や金属イオンについてもアレイ解析の結果から影響が予測され、いずれもバイオアッセイによって証明されました。

これらの成果により、「DNAアレイ解析」、「安住式ホヤ遺伝子分類法を用いた影響の予測」、「バイオアッセイによる検証実験」の3種類の解析を組み合わせることによって、環境化学物質や金属イオンが海産無脊椎動物に与える生物学的影響を予測・検証するユニークな影響評価系を確立することができました（図1）。同様の手法で物理的（海水の温度、浸透圧等）、生物的ストレス（病原体の感染等）の影響評価や応答遺伝子群の解析が可能であると考えています。

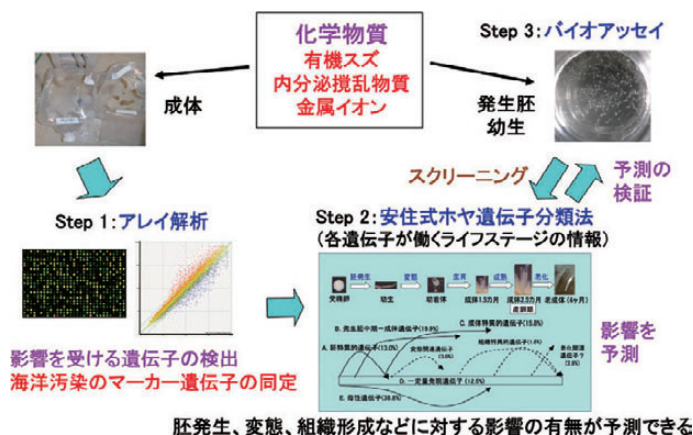
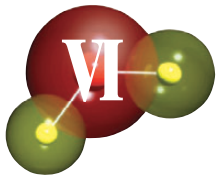
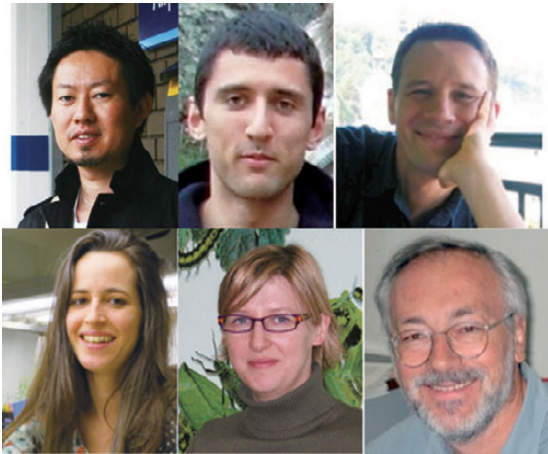


図1 ホヤの遺伝子発現を指標にした環境化学物質、金属のユニークな影響評価系



siRNA によるシロイヌナズナ熱活性型レトロトランスポゾンの世代間転移制御

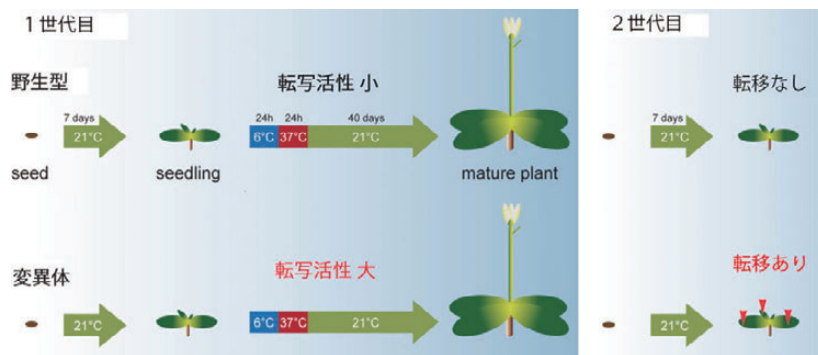
伊藤 秀臣 北海道大学 理学研究院
いとう ひでたか



(上段左から) 伊藤秀臣、Hervé Gaubert、Etienne Bucher
(下段左から) Marie Mirouze、Isabelle Vaillant、Jerzy Paszkowski

トランスポゾンは細胞内においてゲノム上の位置を移動することのできる塩基配列である。1940年代にバーバラ・マクリントックがトウモロコシの種の斑模様の原因因子として同定し、後にノーベル生理学・医学賞を受賞した。現在ではヒトを含む多くの生物に多数存在することが知られている。転移はゲノムの DNA 配列を変化させることで突然変異の原因となり多様性を生み出し生物の進化を促進してきたと考えられている。また遺伝子導入のベクターや変異原として有用であり遺伝学や分子生物学において様々な生物で応用されている。トランスポゾンの転移はゲノム進化

の要因となるが宿主ゲノムにとっては有害となる場合が多いため現在までに報告されているほとんどのトランスポゾン配列は DNA のメチル化やヒストン修飾により活性が抑制されている。しかしながら自然界ではそれらのトランスポゾン配列は多くの生物種のゲノム内に広く拡散しており、いつどのようにして拡散したのかという疑問に対する明確な答えは得られていない。また遺伝子内や近傍に挿入されたトランスポゾンはその遺伝子の発現を変化させることが報告されている。これらのことからトランスポゾンはゲノム構造や遺伝子発現を変化させることで生物種の進化の大きな原動力となってきたと考えられる。環境ストレスは遺伝子やトランスポゾン配列のエピジェネティックな修飾に影響を与えることが報告されている。このことは、環境ストレスによって活性化されたトランスポゾン配列がゲノム構造の変化、遺伝子発現の変化をもたらし、その結果環境適応能力を獲得した個体を生み出してきたと考えることができる。この仮説を検証するため植物においてストレス条件下で活性化するようなトランスポゾンとそれを制御する遺伝子に焦点を当て研究している。我々はシロイヌナズナの copia 型レトロトランスポゾン「ONSEN」が熱ストレスで活性化することを見つけた。ONSEN は転写が活性化し染色体外 DNA を合成する。また siRNA 合成経路の変異体に熱ストレスを与えると次世代で高頻度に転移が観察され siRNA が ONSEN の転移制御に関与することが示唆された。新規挿入箇所は個体間で異なることから転移は生殖細胞にも起こり配偶子に受け継がれることが示唆された。これらの結果からレトロトランスポゾンの新規の転移制御機構について発表した。





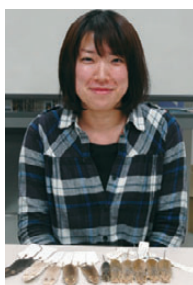
ハツカネズミの毛色関連遺伝子 *Mc1r* 周辺領域の塩基多様度の減少

児玉紗也香
こだま さやか

北海道大学環境科学院
生物圏科学専攻

近年、モデル動物から得られたゲノム情報を用い、野生集団における遺伝的変異と自然選択の影響についての研究が行われるようになったが、哺乳類の野生集団については十分な研究はなされていない。ハツカネズミは最もゲノム研究が進んでいるモデル動物の一つであり、その野生集団は自然選択検出システム構築のための先駆的研究を行う上で有望な研究対象の候補の一つである。本研究では国立遺伝学研究所に保存されている野生ハツカネズミの DNA サンプル（森脇バッテリー）を用いて、毛色関連遺伝子の地理的変異と自然選択の影響について検討した。

野生ハツカネズミの毛色関連遺伝子 *Melanocortin 1 receptor* (*Mc1r*) およびその周辺領域（図2）の塩基配列をもとに（Nunome et al. 2010）、4つの地域集団 DOM（ヨーロッパ集団）、CAS（インド・東南アジア集団）、東 MUS（日本・韓国集団）、西 MUS（東ヨーロッパ集団）の塩基多様度（ π ）を比較した（図3）。DOM と CAS では、*Mc1r* 周辺で塩基多様度が低く、多様性が減少していた（図3-I、II）。また、*Mc1r* における自然選択検定（Tajima's *D*）が有意な負の値を示し、有益な突然変異が集団に広まることでその周辺領域の多様性が低下する“selective sweep”の関与が示唆された。一方、東 MUS でみられた全体的に低い π の値は（図3-III）、創始者効果による可能性が高く、西 MUS での *Mc1r* 周辺における高い遺伝的多様性は、多様化選択の関与や他地域集団との遺伝的交流の存在が示唆された（図3-IV）。以上のように、ハツカネズミの地域集団において、それぞれ自然選択が *Mc1r* の進化的動態に影響を与えていることが示唆される。また、自然選択の影響の推定には野生ハツカネズミの歴史的背景の理解が必須であることも改めて認識できた。



児玉紗也香



布目三夫



森脇和郎



鈴木 仁

本研究は、野生ハツカネズミが自然選択検出システム構築のためのモデル生物として有用であることを示し、30年以上に渡り収集された森脇バッテリーが野生集団における自然選択の関与の検討に使用できることを実証するものであり、ゲノムワイドな研究にも耐えるものであることを示唆している。今後は、selective sweep が示唆された DOM と CAS で詳細なハプロタイプ構造の把握や原因 SNP の探索を行いたい。



図2 調査した遺伝子領域

Mc1r およびその周辺領域 200 kb の8個の遺伝子座 (*Fanca*、*Spire2*、*Tef25*、*Mc1r*、*Mc1r-Spc* [スパーサー領域]、*Def8*、*Aig31*、*Dbnd1*) の染色体上の位置。

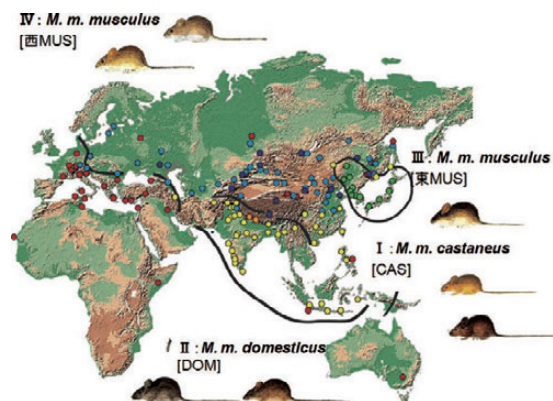


図1 野生ハツカネズミ地域集団の分布

赤は *Mus musculus domesticus* (DOM・ヨーロッパ集団)、黄色は *M. m. castaneus* (CAS・インド・東南アジア集団)、黄緑は *M. m. musculus* (東 MUS)、青・水色は西 MUS の分布を表す。系統地理学的解析により3つの亜種を4つの地域集団に分けた (Suzuki et al. unpublished)。

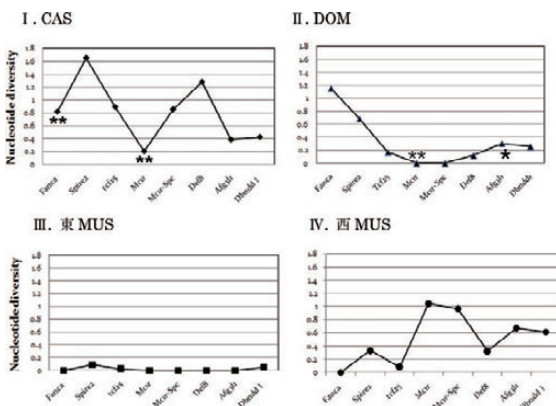
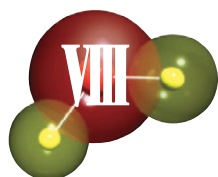


図3 *Mc1r* 周辺領域の塩基多様度 (Nucleotide diversity, π)

近傍遺伝子座間で π を比較することは自然選択検出の指標となる。 π の値は標準化した相対値 (地域集団の π / 全体の π) を示す。 $*$ は Tajima's *D* で有意な負の値が出たことを示す ($*$ は $0.1 > p > 0.05$, $**$ は $p < 0.05$)。



ヒトの薬物・化学物質に対する代謝システム構築過程の解明

—霊長類 *CYP2D* サブファミリーの分子進化—

安河内彦輝 総合研究大学院大学 先端科学研究科
やすこうち よしき



安河内彦輝

堀田葉子

日常生活で我々は、病気に罹患したときに薬を飲む。では、薬は我々の体内でどうなるのか。そこにはチトクローム P450 (CYP) という酵素群が、肝臓や小腸で働き、薬を代謝することで不活性化あるいは排泄しやすい形にしている。しかし、我々が薬を飲むようになったのはごく最近のことで、薬が誕生するよりずっと前にすでにこの代謝システムは存在していたことは明らかである。では、このシステムはいつどのようにして出来上がったのか。それを明らかにするために、*CYP* という遺伝子群に注目して研究を始めた。

CYP の中でも *CYP2D6* という分子種は、アルカロイドのような化学物質や薬の約20%の代謝に関与し、その代謝効率の個人差に関連することが知られている (Ingelman-Sundberg, 2005)。*CYP2D6* は、ヒトでは22番染色体上に

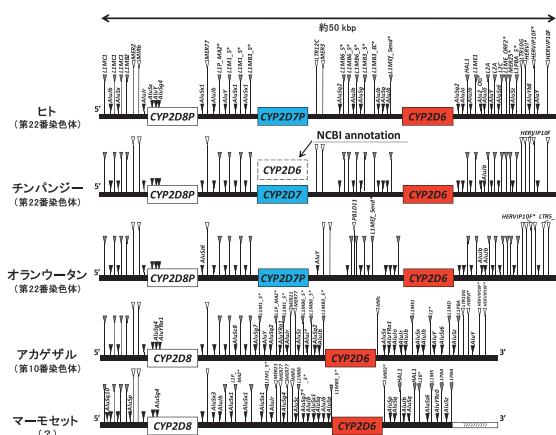


図1 霊長類5種の *CYP2D* サブファミリーの遺伝子構成の模式図

長方形は1つの遺伝子を表す。オーソログと予測されたものは同じ色で示されている。各遺伝子名に“P”がつくものは、アミノ酸配列の予測から偽遺伝子化していることを意味する。遺伝子間領域の逆三角形は、トランスポゾンエレメントを表す。黒色は *Alu* エレメント、灰色は LINE、白色はその他のトランスポゾンエレメントを表す。特にエレメントの名称が記載されていないものは、同じ位置にあたるヒトのエレメントと同じである。チンパンジーの *CYP2D6* の位置の予測が異なっていたため、NCBI データベースのアノテーション予測を図中に破線四角で示す。

CYP2D7P、*2D8P* 偽遺伝子と隣接して位置し、これらを *CYP2D* サブファミリーと呼ぶ。このサブファミリーはヒトで注目されているが、近縁霊長類ではほとんど研究がなされていない。そこでまず、ヒトの薬物・化学物質における代謝システムの構築過程を解明するために、霊長類 *CYP2D* サブファミリーの分子進化について調査した。ゲノムデータベースを利用し、ヒトを含む霊長類5種の *CYP2D* サブファミリーの遺伝子構成を同定した (図1)。その結果、*CYP2D* サブファミリーの起源は、少なくとも新世界ザルの誕生よりもさらに古いことが示された。また、アミノ酸配列の推定から、*CYP2D8* 分子はヒトと大型類人猿の共通祖先で、*CYP2D7* は最近になってヒトとオランウータンで偽遺伝子化したことが示唆された (図2)。ウィンドウ解析からは、各 *CYP2D* 遺伝子間での遺伝子変換が示唆されたが、これは遺伝子変換を促すといわれる遺伝子領域間の高密度の *Alu* エレメントとは別の要因かもしれない (図1)。一方で、代謝機能に重要な基質認識部位では、*CYP2D6* と *2D8* 分子の機能を保持するために遺伝子変換の影響が低かった。つまり、*CYP2D6* は比較的多くの薬 (基質) を代謝する一方、サブファミリー内の分子間では、異なる基質を認識するように進化してきたと推測される。

今後は、現在のヒト集団における *CYP2D6* の遺伝的多様性がどのようにしてできたかを調査する。民族集団間での多様性の比較や、対立遺伝子頻度の空間分布パターンの調査、共通祖先の出現時間の推定などを行う。*CYP2D6* 分子は植物毒素であるアルカロイドの代謝に関わっている。苦味受容体 (T2R) も植物毒素を認識するために、環境の違いにより種独自に進化してきたと考えられている (Go et al. 2005)。将来、T2R との関連性も明らかにしたい。

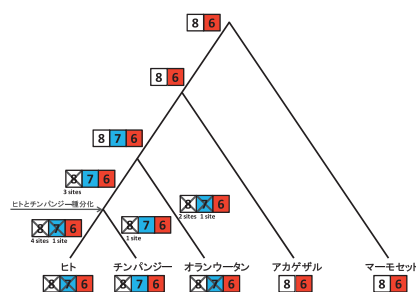
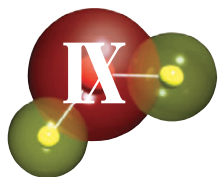


図2 霊長類 *CYP2D* サブファミリーの偽遺伝子化の時系列図

各四角内の数字は、*CYP2D* サブファミリーの分子種を表す (例えば6なら *CYP2D6*)。×印は、有害突然変異 (フレームシフト変異・ナンセンス変異) によって偽遺伝子化したことを表す。下の数字は、その系統で起きた有害突然変異サイトの数を示す。ただし、一番下の数字は合計数を示す。



C. elegans において *ttx-4* 変異体が生ずる好熱性異常を抑圧する変異体の解析

古田 智敬
ふるた ともゆき

名古屋大学大学院 理学研究科
生命理学専攻



久原 篤

古田 智敬

森 郁恵

我々人間は、外界からの刺激を受けて応答し、さらには、さまざまな事象との連合学習を行なうことができます。このような能力は、高等動物に限ったものではありません。線虫 *C. elegans* は、わずか302個の神経細胞からなる神経系を用いて、温度、匂い、味などの刺激とエサ情報との連合学習を行います。当研究室では、線虫が示す行動の中で、温度とエサ情報の連合学習に基づく行動である温度走性に着目し、感覚受容と記憶・学習のメカニズムを解析しています。

温度走性とは、線虫個体がエサの存在下で、飼育温度域内 (15℃ ~25℃) の一定温度で飼育されると、その飼育温度を記憶し、エサの無い温度勾配上で飼育温度へ移動するという行動です (図1)¹⁾。

温度走性行動に関わる主要な神経回路は、すでに同定されており、温度受容ニューロン AFD 内で機能する分子もいくつか明らかにされています¹⁾。AFD 内で機能する分子の一つ、PKC (Protein Kinase C) に異常を持つ *ttx-4* 変異体は、飼育温度に関わらず常に飼育温度よりも高い温度に移動する好熱性異常を示すことが知られています²⁾。PKC は、様々な生理機能に関与することが知られ、シグナル伝達において重要な役割を持つことが明らかにされていますが、AFD 内のシグナル伝達における詳細な機能やシグナル伝達経路は明らかにされていませんでした。そこで、本研究では、*ttx-4* 変異体が生ずる好熱性異常を抑圧する変異体の単離を試みました。

その結果、AFD で機能する新たな遺伝子として、ショウジョウバエのイノシトールリン脂質転移酵素 *rdgB* のオルソログである *M01F1.7* 遺伝子が同定されました。*m01f1.7* 変異と *ttx-4* 変異との二重変異体の温度走性を観察すると、*m01f1.7* 変異による、*ttx-4* 変異体の好熱性異常を抑圧する

度合いは、完全ではないことがわかりました (図2左上)。一方、*m01f1.7* 変異体は、飼育温度に関わらず、およそ19℃付近へと分布しました (図2下)。つまりこの変異体は、飼育温度に対する依存性が損なわれているようであるにも関わらず、温度勾配上の特定の温度へ移動することは出来るという、興味深い表現型を示すことがわかりました。現在、この遺伝子について詳細な解析を進めています。

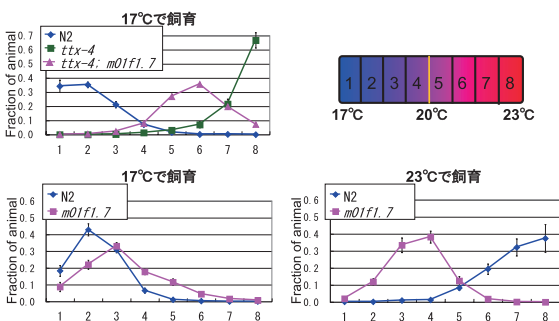


図2 *ttx-4*; *m01f1.7* 変異体と *m01f1.7* 変異体の温度走性行動

温度走性用 assay プレートに 8 区画に分けた時 (右上)、各区画にいた個体数の割合を折れ線グラフで示した。横軸に区画、縦軸に個体数の割合を示した。

ttx-4; *m01f1.7* 変異体は、*ttx-4* 変異体が生ずる好熱性異常を抑圧したが、野生株 N2 のように17℃には分布せずパーシャルな抑圧が観察された (左上)。一方、*m01f1.7* 変異体は、17℃飼育と23℃飼育のどちらにおいてもおよそ19℃の付近に分布した (下)。

文献

- 1) Mori et al., *Current Opinion in Neurobiology*, 17, 712, 2007
- 2) Okochi et al., *Embo Journal*, 24 (12), 2127, 2005

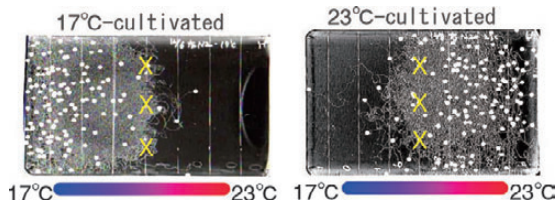
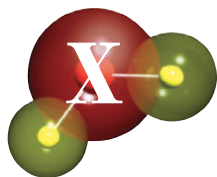


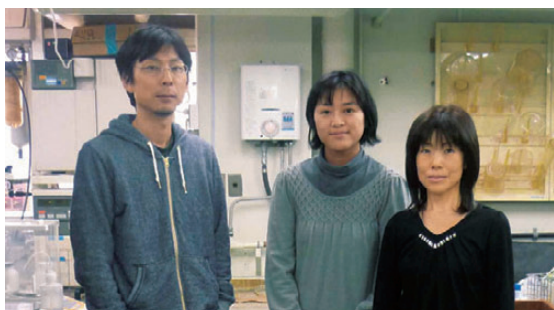
図1 *C. elegans* の温度走性行動

C. elegans をエサの存在下で一定温度で飼育した後、エサのない温度勾配上 (17℃~23℃) のX印に置き、1時間自由に行動させた時の assay プレートの写真。白い点は、個体の位置を示す。



慢性的な低線量紫外線照射 (CLUV) による突然変異誘導のメカニズム

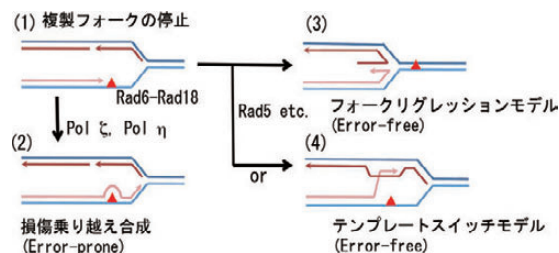
春田 奈美 大阪大学 微生物病研究所
はるた なみ



菱田 卓 春田奈美 久保田佳乃

紫外線 (UV) は DNA 損傷を引き起こす最も身近な環境変異源である。UV によって生じる塩基損傷 (ピリミジンダイマー) はヌクレオチド除去修復機構 (NER) によって特異的に修復される一方、増殖細胞においては DNA 複製の阻害を引き起こす。このような事態に備えて損傷部位のバイパス機能による複製の再開に関与する DNA 損傷トレランスと呼ばれる経路が存在する (図 1)。UV 照射の実験では、高線量 UV を短時間で照射する方法が一般的だが、我々の研究室では、弱い線量の UV を慢性的に照射する方法 (CLUV 法) を確立し、より自然環境に近い条件での細胞応答を出芽酵母の変異体を用いて調べてきた。その結果、この CLUV の条件下では NER 欠損株よりも損傷トレランス機構の欠損株において増殖阻害を引き起こすことを明らかにした¹⁾。

本大会では、CLUV 照射下での NER 欠損株のゲノム安定性についての新たな知見について発表した。CLUV 照射下では、NER 欠損株は DNA 損傷を蓄積しながらも野生型と変わらない生育を示すが、突然変異頻度は時間とともに上



(1) 複製フォークが DNA 損傷に衝突するとそのままでは乗り越えられない。そこで Rad6-Rad18 を介して (2) TLS ポリメラーゼによる損傷乗り越え合成経路と (3) Rad5 依存的に複製フォークが巻き戻されるモデル (4) Rad5 依存的に DNA 合成の鋳型が変換されるモデルが提唱されている。

昇した。次に TLS ポリメラーゼの関与を遺伝学的に調べると、Pol ζ と Pol η は同程度に突然変異を誘発していることが示唆された。既存の研究では Pol η は突然変異を起こしにくいと考えられてきたので、本研究において Pol η が突然変異を誘発する原因についてさらに詳細に検討した。シーケンズ解析によって変異部位を同定すると Pol η が、C (G) $\rightarrow$ T (A) 変異のみを引き起こしていることが分かった。さらに CPD (シクロブタン型ピリミジンダイマー) フォトリアーゼを利用した光回復実験によって、Pol η が CPD を乗り越えるときに変異を誘発していることを示した。これらの結果から、チロシン-シトシン型 CPD やシトシン-シトシン型 CPD 中のシトシン塩基が、非常に早い脱アミノ化反応を起こしてウラシルに変換され、そこへ Pol η が正しくアデニンを挿入して乗り越えることで、結果として C $\rightarrow$ T 変異を引き起こしているというモデルを提唱した (図 2)。

今後は、この脱アミノ化と共役した Pol η 依存的な突然変異誘発モデルを証明するために、他遺伝子との相関及び DNA 構造や細胞機能との関与を調べ、細胞がゲノムを安定的に維持する戦略について包括的に理解してきたいと考えている。

1) Hishida, et. al., *Nature* (2009) 457, 612-615

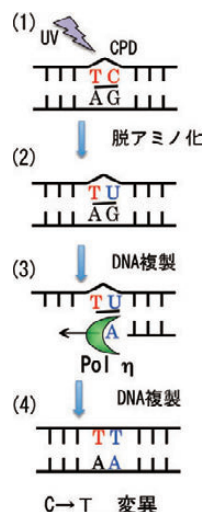
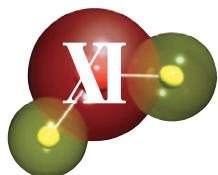


図 2 脱アミノ化反応を介した Pol η 誘導の突然変異のメカニズム

(1) UV によって生成した CPD がそのまま修復されずに放置されると、(2) CPD 中のシトシン塩基は、脱アミノ化しウラシルに変換する。(3) 複製フォークは CPD で停止するので Pol η が U に対して A を挿入して乗り越える。(4) 複製が繰り返されて C $\rightarrow$ T 変異は固定される。



PCNA のユビキチン化の分子機構

増田 雄司
ますだ ゆうじ

広島大学 原爆放射線医科学研究所

DNA は様々な物理化学的要因により日常的に障害を受けている。複製型の DNA ポリメラーゼは、多くの損傷塩基に対して DNA 合成を停止するが、これに際して DNA 合成を再開、継続する分子機構として RAD6 経路がある。RAD6 経路には二つのサブ経路がある。一つは、損傷特異

的な DNA ポリメラーゼによる損傷乗り越え DNA 合成経路 (translesion DNA synthesis, TLS) であり、誘発突然変異の主要な原因となる。もう一つは、既に合成されたもう一方の娘鎖を鋳型とする鋳型鎖交換反応を介した経路 (template switch, TS) であり、忠実度が高い。TLS と TS はそれぞれ PCNA のモノ/ポリユビキチン化により制御される。モノユビキチン化された PCNA は TLS ポリメラーゼをリクルートし TLS 経路を促進する。一方、ポリユビキチン化した PCNA は、未知の機能により TS を促進する。

PCNA のユビキチン化には二組の E2 (RAD6 と UBC13) と E3 (RAD18 と RAD5 (出芽酵母) / HLTF (ヒト)) を必要とする。遺伝学的解析から、RAD6 または RAD18 欠損株では、PCNA のユビキチン化が観察されず、UBC13 または RAD5 欠損株では、モノユビキチン化のみ観察される。この結果から、PCNA のポリユビキチン化は二段階の反応であり、RAD6 と RAD18 がまず PCNA をモノユビキチン化した後に、UBC13 と RAD5 がこれを基質にユビキチン鎖を伸長すると考えられた (図 1)。しかし、このモデルには二つの疑問点がある。一つは、なぜ忠実度の高い経路が、忠実度の低い経路の下流なのか、もう一つは、RAD5/HLTF がどのようにして PCNA から遠く離れたユビキチン末端を認識するのかという疑問である。

本研究では、上述の疑問の解決を期待し、ヒトの精製タンパク質を用いて PCNA のユビキチン化反応を解析した。その結果、全く予期していなかった反応が観察された (図 2)。この反応では、まず UBC13 上にユビキチン鎖が合成され、その後このユビキチン鎖が RAD6 に転移する。この反応機構で特筆すべきは、ユビキチン鎖が donor として転移することにより、HLTF は E2~Ub の構造のみを認識し、ユビキチン鎖末端を認識する必要のない点である。一方、



鈴木文男 鈴木美紀

増田雄司 河合彦彦 神谷研二

菱木麻美

橋本 博

RAD18 の酵素活性も RAD6 上のユビキチン鎖の長さには影響されないが、その基質は PCNA に特異的である。

この反応機構は、これまでの遺伝学的結果とは矛盾せず、TLS と TS が実は独立の経路であることを示唆する (図 3)。TS には必ず新生娘鎖を必要とするので、その開始が厳密に制御されなければならない。新しいモデルは、全ての因子が同時にリクルートされた場合に限り、TS を開始できることを意味し、TS の制御機構として優れている。全ての因子が同時にリクルートされる分子機構は今後の課題である。

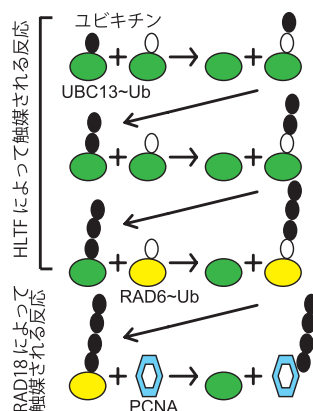


図 2 ユビキチン鎖合成の新しいモデル

UBC13 にチオエステル結合で連結したユビキチン (UBC13~Ub) に対してユビキチンが転移し、UBC13~Ub₂ が生成する。次の反応では、生成した Ub₂ が UBC13~Ub に転移し、UBC13~Ub₃ が生成する。このように伸長したユビキチン鎖が RAD6~Ub に転移することにより RAD6~Ub_(n+1) が生成し、これが PCNA のポリユビキチン化の前駆体となる。各反応で、donor 側のユビキチンを黒、acceptor 側のユビキチンを白で示している。

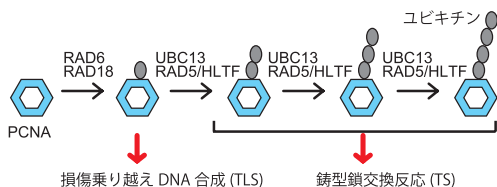


図 1 PCNA のユビキチン化の従来のモデル

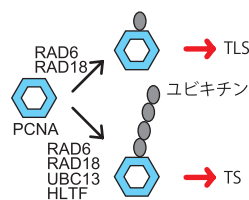
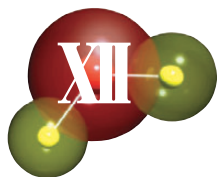


図 3 RAD6 経路の新しい制御モデル



高い突然変異率が哺乳類集団へ及ぼす影響と新たな表現型の創出

内村 有邦 大阪大学 生命機能研究科
うちむら ありくに



若菜茂晴 三浦郁生 内村有邦 日高裕子 八木 健

ヒトの生殖系列で発生する有害な突然変異の数は世代あたり1を超えることが知られています¹⁾。これは他の生物種と比べても高い値であり、通常の集団遺伝学のモデルでは、特に強い自然選択が働いていなければ集団中に有害な突然変異が急速に蓄積され、集団は絶滅してしまうと考えられます。複数の突然変異間で働く相互作用により、有害な突然変異が集団中から効率的に除去されているのではないかと考えられていますが、実験的な証拠は多くなく、今なお明確な答えは得られていません。私たちは、突然変異率を高めたマウス系統を利用することで、生殖系列で生じる高い突然変異率が後世代の個体の表現型にどのような影響を与えるかを実験的に解析することができないかと考えました。生殖系列で生じる突然変異の多くはDNA複製時のエ

ラーにより生じると考えられているので、遺伝子改変によりDNA複製で主要な働きを担っているDNAポリメラーゼ δ の複製忠実度を低下させたマウス (*Pold1* 遺伝子の3'-5'エクソヌクレアーゼ活性欠失マウス)を純系 (C57BL/6)由来で作製し²⁾、このマウスを兄妹交配により長期間継代することで、個体の表現型に変化が生じるかどうか解析を進めてきました。現在までに複数の系統に分けて、4年間で最大15世代の継代を行い、その表現型の変化を解析した結果、それらの系統では、野生型マウスを用いた継代に比べて、繁殖能力が大幅に低下することや、集団内での尾の長さの分布が増大していることが分かりました。また、それらのマウスの継代からは、水頭症や毛色異常などの表現型異常を示す個体も数多く産まれてきました (図1)。その中でも特に興味深いと思われた「ヒト可聴音域で小鳥のように歌うマウス」や「足指数が減少したマウス」、「四肢と尾が短いマウス」などについて、遺伝性を確認した結果、いずれも劣性遺伝することが分かり、「ヒト可聴音域で小鳥のように歌うマウス」では、塩基置換型変異の同定に成功しました。これらの結果から、DNAポリメラーゼ δ 改変マウスを長期間継代すると個体レベルの表現型が変化することが明らかになりました。しかしながら、明らかな表現型異常を除けば、尾の長さ以外の形質は未だ解析できておらず、突然変異率が野生型に比べてどれだけ上昇したのかも分かっていません。今後は、これらの課題に取り組むことで、哺乳類進化の過程を実験的に解明する新たな実験モデル系を構築していきたいと考えています。そのような中で、人類集団が持つ高い突然変異率の謎についても解き明かしていきたいと考えています。

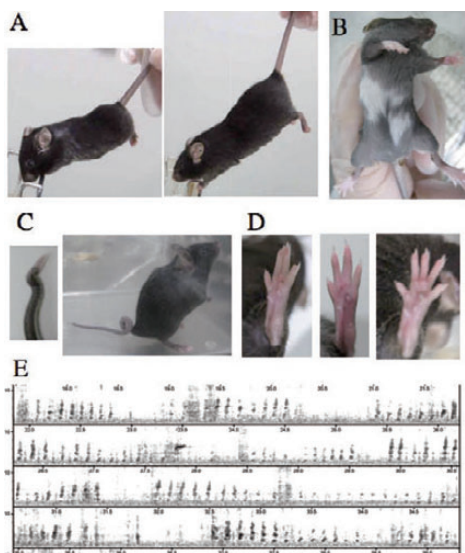


図1 これまでに得られた表現型変異の例

A. 四肢と尾長が短い (写真左)、野生型 (右) B. 毛色異常 C. 尾の異常 D. 足指数の減少 (左2枚)、野生型 (右) E. 小鳥のように歌うマウスの歌のソナグラム。

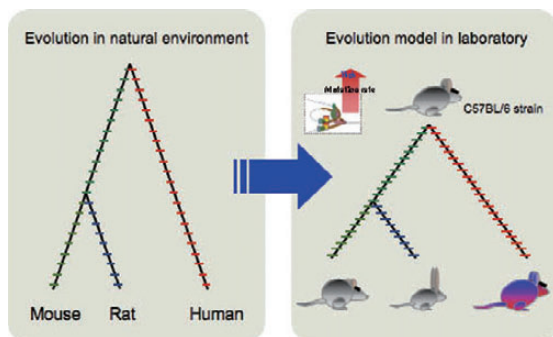


図2

突然変異率の上昇により分子進化速度を加速させることで、実験室内で哺乳類の進化過程を解析する新たな実験モデル系を構築する。これにより、哺乳類の進化過程を支配している法則を解明したい。

- 1) A. Eyre-Walker and P. D. Keightley, *Nature* **397**, 344 (1999)
- 2) A. Uchimura, Y. Hidaka, T. Hirabayashi, M. Hirabayashi and T. Yagi, *PLoS ONE* **4**(1), e4184 (2009)

BP 賞 選 考 内 規

1 概 要

Best Papers (BP) 賞の選考には BP 賞選考委員が当たる。選考委員会は、以下の規定による BP 賞投票権者の投票結果を集計し、その得票数に従って、BP 賞受賞講演を選考する。選考結果は、オブザーバーとして選考委員会に出席する遺伝学会会長と大会準備委員長の承認を経て、正式なものとなる。

2 BP 賞投票権者

評議会メンバー（会長、幹事、役員、評議員）、編集委員と編集顧問および各セクションの座長を投票権者とする。BP 賞選考委員に任命されても投票権は失わないものとする。

3 BP 賞選考委員

BP 賞選考委員は、本部企画として企画・集会幹事が発議し、毎年幹事会内に設置する。委員は、学会長と大会準備委員長の承諾を得て企画・集会幹事が選考し、幹事会の承認をもって正式なものとする。委員会の構成は通常以下のようなものとする。

- 1) 各幹事と大会準備委員会メンバー若干名（プログラム委員が望ましい）
- 2) 必要な場合は、評議員や編集委員からも委員を選考することができる。
- 3) 学会長と大会準備委員長はオブザーバーとする。
- 4) 委員長は、会長と大会準備委員長の承認を得て、委員のなかから選ばれる。

4 投票方法

- 1) **投票用紙**：投票は記名投票として、投票用紙には「投票者氏名欄」「全ての講演番号」「チェック欄」「推薦欄」「備考欄」を入れる。
- 2) **投票用紙の配布**：BP 賞投票権者には BP 賞選考内規と投票用紙を前もって本会から郵送する。紛失した場合は、大会事務局で代わりをもらうことができる。
- 3) **評議会メンバー・編集委員・編集顧問の投票（一般投票）**：聴講した講演はチェック欄に“レ”印を入れる。その中で、特に優れた講演を◎、優れた講演を○で、推薦欄に記す。◎と○は、合わせて1割程度とする。なお、投票者自身が共著者になっている講演は、備考欄に「キ」と記し、それを推薦することはできない。
- 4) **座長の投票（座長推薦）**：司会した講演にチェック欄に“ザ”を記す。その中から、特に優れた講演を◎、優れた講演を○で、推薦欄に記す。該当無しでも構わないが、必ず投票すること。この投票を「座長推薦」とする。また、座長は、聴講した講演に対しても投票することができる。この投票は、上述3) 一般投票の方法に準拠する。
- 5) **重複推薦**：評議会メンバー・編集委員・編集顧問が座長となった場合は、上記4) 座長の投票に準拠する。
- 6) **投票箱の設置**：大会本部に投票箱を設置する。投票終了は大会全日程終了後とし、それ以後の投票は認めない。

5 集計と選考の方法

- 1) **開票**：投票終了後、複数の選考委員立会いのもとで、直ちに開票する。
- 2) **集計方法**：一般投票と座長推薦は別々に集計する。一般投票に関しては、聴講数と推薦数を別々に集計し、それぞれの講演の「得票率」を計算する。また、「座長推薦」された講演のリストを作成する。
- 3) **選考方法**：一般投票による得票率順を明らかにした上で、分野別のバランスを考慮し、座長推薦の結果を適当な比率で換算し得票率に加算する。この合計得票率順に BP 賞受賞候補講演を選考する。座長推薦の比率は選考委員会で協議して決める。
- 4) **BP 賞受賞講演の承認**：3) の結果を、オブザーバーとして参加している会長と大会準備委員長に諮り、その承認を経て正式な BP 賞受賞候補講演とする。
- 5) **BP 賞受賞講演数**：10講演程度を目安に選考するが、分野間のバランスなどを考慮し、ある程度の増減はできるものとする。

6 選考の公正および選考委員・オブザーバーの辞任

- 1) 集計が終わった段階で、選考委員およびオブザーバー自身が共同発表者となっている講演が、受賞講演予定数の3倍以内の順位にノミネートされていた場合、直ちに選考委員およびオブザーバーを辞任する。この処置により、選考委員が激減する場合は、選考委員会は新たな委員を招聘することが出来るものとする。
- 2) なお、辞任した選考委員およびオブザーバーに関しては、その氏名をそれ以後のサーキュラー、学会ホームページ、大会ホームページ等からは削除する。
- 3) こうした処置により、選考委員やオブザーバーになっても、BP賞の受賞チャンスを失うことがないようにする。

7 BP賞の発表

- 1) 選考委員会で正式決定したBP賞候補の筆頭講演者には、その旨通知するとともに原稿を依頼する。
- 2) 期限内に原稿を受理したBP賞候補のみを正式なBP賞と認め、その筆頭講演者に講演者全員分の賞状を発送するとともに、受理した原稿を本会記事やサーキュラー、学会ホームページ、あるいは大会ホームページ等に掲載する。
- 3) 期限内に原稿を受理できなかったBP賞候補に関しては、受賞を辞退したと見なし、BP賞のリストから削除する。

8 雑 則

この内規に定めるもののほか、この内規の施行については必要な事項は、日本遺伝学会幹事会・評議会の合意をもって定める。

附 則

この内規は、平成19年度遺伝学会岡山大会から施行する。

Genes & Genetic Systems 第85巻5号 (付録)
2011年2月1日発行 非売品
発行者 五條堀 孝
印刷所 レタープレス株式会社
Letterpress Co., Ltd. Japan
〒739-1752 広島市安佐北区上深川町809-5番地
電話 082 (844) 7500
FAX 082 (844) 7800

発行所 日本遺伝学会
Genetics Society of Japan
静岡県三島市谷田1111
国立遺伝学研究所内

学会事務取扱
〒411-8540 静岡県三島市谷田・国立遺伝学研究所内
日本遺伝学会
<http://www.soc.nii.ac.jp/gsj3/index.html>
(電話・FAX 055-981-6736
振替口座・00110-7-183404
加入者名・日本遺伝学会)

国内庶務、渉外庶務、会計、企画・集会、将来計画、
編集などに関する事務上のお問い合わせは、各担当幹
事あてご連絡下さい。
乱丁、落丁はお取替えます。