

ATRX
Xist

若手研究者が語る

21世紀の遺伝学 (VIII)

日本遺伝学会第83回大会 Best Papers 賞

I
II
III
IV
V
VI
VII
VIII
IX
X
XI

I 神経活動の光操作とイメージングによる神経伝達の暗号解読
 ○久原 篤^{1,2}、大西憲幸²、下和田智康²、森 郁恵²
 (1) 南大学 理工学部、(2) 名古屋大学大学院 理学研究科

II 線虫 *C. elegans* における嗅覚受容体の網羅的解析
 ○広津崇亮^{1,2}、谷口 群²、桐山恵介^{1,2}、紙崎智子²、佐藤則子²、石原 健^{1,2}
 (1) 九州大学大学院 システム生命科学府、(2) 九州大学 理学部生物学科

III ヒト PCNA のユビキチン化酵素 RAD6-RAD18 複合体の解析
 ○増田雄司、鈴木美紀、神谷研二
 (広島大学 原爆放射線医学研究所)

IV ミツバチの女王蜂分化誘導因子ロイヤラクチンの発見
 ○鎌倉昌樹
 (富山県立大学 工学部生物工学科)

V 鉄硫黄クラスター生合成系、ISC マシナリーの中核を担う IscU タンパク質の *in vivo* 機能解析
 ○田中尚志¹、高橋康弘¹、福山恵一²、和田 啓²
 (1) 埼玉大学大学院 理工学研究科、(2) 大阪大学大学院 理学研究科

VI 核様体凝集蛋白質による複製開始促進因子 DARS2 (DnaA-reactivating sequence 2) の増殖相、及び細胞周期に応じた制御機構
 ○加生和寿、藤光和之、尾崎省吾、毛谷村賢司、片山 勉
 (九州大学大学院 薬学府 分子生物薬学分野)

VII ヒト染色体異常疾患、4 番染色体長腕部分重複症原因遺伝子の同定
 ○田村 勝、加藤依子、城石俊彦
 (国立遺伝学研究所 系統生物研究センター 哺乳動物遺伝研究室)

VIII Xist RNA の 5' 領域の X 染色体不活性化における役割
 ○酒田祐佳^{1,3}、尼川裕子²、保木裕子³、佐々木裕之³、佐渡 敬³
 (1) 九州大学大学院 医学系学府、(2) 国立遺伝学研究所、(3) 九州大学 生体防御医学研究所)

IX ネオセントロメア形成の分子基盤
 荻山友貴、大野悠子、副島朗子、○石井浩二郎
 (大阪大学大学院 生命機能研究科)

X 8-oxoguanine は DNA 鎖切断を誘発することで減数分裂期の相同染色体組換え頻度を上昇させる
 ○大野みずき¹、作見邦彦²、古市正人³、中西恵美¹、續 輝久¹、中別府雄作²
 (1) 九州大学大学院 医学研究院 基礎放射線医学分野、(2) 九州大学 生体防御医学研究所 脳機能制御学分野、(3) 九州大学 RI センター)

XI イネの集団ゲノム解析による栽培化関連遺伝子領域の探索
 ○角 友之¹、佐々木江理子¹、吉田健太郎²、フォーセットジェフリー¹、杉野隆一¹、宅野将平¹、小杉俊一²、夏目 俊²、三岡周子²、植村亜衣子²、阿部 陽³、石井尊生⁴、寺内良平²、印南秀樹¹
 (1) 総合研究大学院大学 先端科学研究科、(2) 岩手県農業研究センター、(3) 岩手県農業研究センター、(4) 神戸大学 農学研究科)

(ローマ数字は原稿受理順を示す。○印は大会における講演発表者を示す。)

GSJ コミュニケーションズ

Proceedings of the Society

平成24年(2012)1月 日本遺伝学会幹事会 編集

目次

BP 賞受賞おめでとうございます

BP 賞選考委員長 遠藤 俊徳

3

BP 賞受賞講演の紹介

I 神経活動の光操作とイメージングによる神経伝達の暗号解読

久原 篤 4

II 線虫 *C. elegans* における嗅覚受容体の網羅的解析

広津 崇亮 5

III ヒト PCNA のユビキチン化酵素 RAD6-RAD18 複合体の解析

増田 雄司 6

IV ミツバチの女王蜂分化誘導因子ロイヤラクチンの発見

鎌倉 昌樹 7

V 鉄硫黄クラスター生合成系、ISC マシナリーの中核を担う IscU タンパク質の *in vivo* 機能解析

田中 尚志 8

VI 核様体凝集蛋白質による複製開始促進因子 DARS2 (DnaA-reactivating sequence 2) の増殖相、及び細胞周期に応じた制御機構

加生 和寿 9

VII ヒト染色体異常疾患、4番染色体長腕部分重複症原因遺伝子の同定

田村 勝 10

VIII Xist RNA の 5' 領域の X 染色体不活性化における役割

酒田 祐佳 11

IX ネオセントロメア形成の分子基盤

石井浩二郎 12

X 8-oxoguanine は DNA 鎖切断を誘発することで減数分裂期の相同染色体組換え頻度を上昇させる

大野みずき 13

XI イネの集団ゲノム解析による栽培化関連遺伝子領域の探索

角 友之 14

BP 賞選考内規

15

BP 賞受賞おめでとうございます

遠藤 俊徳 (BP 賞選考会委員長)

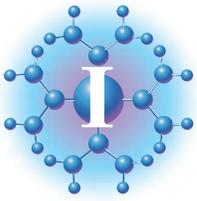
第83回京都大会では、各分野から11演題が BP 賞として選ばれました。受賞者の皆様には心よりお祝いを申し上げます。

BP 賞は第73回東京大会（2001年）に始まり、大会のメインイベントとしてすっかり定着しました。10回目となった82回大会からは、前年度受賞者の一年分の進展を含めた内容が、プレナリーワークショップ「前年度の BP 賞受賞講演から」として、全参加者が講演されることになりました。時間枠の都合上、受賞者全員とはいきませんが、他の講演等と並行せず単独で開催されるため、全ての大会参加者が素晴らしい講演を聴講できる良い機会となっています。本企画は大好評で、今後も継続される予定です。

ところで、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、日本の遺伝学の発展に資することを願って作られた」ものです。未来ある若い研究者にとって、受賞は名誉ある報奨となり、将来への道をより確実なものに近づけるのはもちろんですが、そういった才能と情熱を併せ持ち、成果に結びつけること大切さを訴えることによって、学問や学会、ひいては社会や人類にとっても、将来につながる重要な意味を併せもつものと信じています。

しかし、毎年、我々の頭を悩ませている事柄があります。審査に当たっては、審査員の方々の協力を得、演題ごとの聴講数に対する重みつき推薦率を算出することで順位決定を行っています。しかし講演が複数会場で並行実施される関係で、審査員の聴講演題数が十分でなく、分母となる審査員聴講数が極端に少ない例が散見されています。こうした状況では、素晴らしい演題が、みすみす見落とされかねません。

BP 賞の審査員は、評議員、幹事、座長です。多くの会員の中から投票によって選出され、お忙しい中、時間をやりくりして大会に参加されている評議員の方々には、日頃、また大会時にも、遺伝学会の運営においても非常に重要な役割を果たされており、また、幹事、座長の皆様には、学会、大会の運営に多大なご尽力をいただいているものと存じますが、良い講演を見いだしていただくために、もう一步踏み込んで広範な講演をより多くのお聴きいただくよう、一層のご助力をいただければ幸甚です。



神経活動の光操作とイメージングによる神経伝達の暗号解読

久原
くはら

篤
あつし

甲南大学 理工学部
名古屋大学 大学院理学研究科

下和田智康

脳の神経回路を流れる複雑な情報が、個々の神経細胞内でどのように混線することなく伝達され、行動を調節しているかを解明することは重要な課題である。これまでに、線虫 *C. エレガンス* の温度応答行動をモデル系とした遺伝学的解析から、温度受容と記憶学習に関わる遺伝子が多数同定されてきた。最近では、温度受容ニューロンにおいて、温度情報が従来の TRP 型のチャンネルではなく、三量体 G タンパク質で伝達されるケースが全生物で初めて見つかった¹⁾。また、温度学習が、わずかに3つの介在ニューロンで制御され、分泌性の神経ホルモンであるインスリンやカルシウム伝達系が必須であることが明らかとなった^{2,3,4)}。このように、従来の分子遺伝学的解析から、温度受容と記憶学習の分子神経機構がひも解かれてきたが、依然として、神経回路情報処理の解明には至っていない。

神経情報処理の新概念の創出には、従来の分子遺伝学にくわえて、最新の技術を取り入れた解析が必須であった。そこで、神経活動を自由にリモートコントロールできる光技術として、特定の波長光で開口するチャンネル分子であるハロドブシン (HR) を利用した (図1)。温度受容ニューロンの活動を HR で操作した解析から、単一の温度



大西憲幸 森 郁恵

久原 篤

感知ニューロンが単一の介在ニューロンに対して、「興奮性」と「抑制性」の2種類の神経伝達を行なっていることが明らかとなった (図2)^{5,6)}。さらに、温度感知ニューロンにおける Ca^{2+} 濃度の変化率が、促進性と抑制性の神経伝達の「切り替えスイッチ」として機能し、行動の逆転を引き起こすことが明らかになった (図2)⁵⁾。

これまで、単一の感覚ニューロンが、それと接続する単一の介在ニューロンに対して、興奮性と抑制性の神経伝達を同時に制御する生理的な機構は分かっていなかった。そのため、本結果は、神経情報処理の新しい概念を創出するものとなった。

謝辞：本研究は、大西憲幸博士 (現広島大)、下和田智康氏 (名古屋大)、森 郁恵教授 (名古屋大・院理) をはじめとする方々との共同研究のため心より感謝申し上げます。

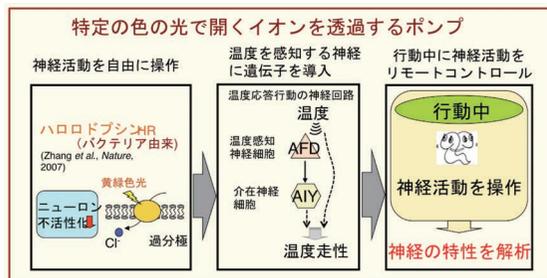


図1 神経活動を自由にリモートコントロールする技術
光駆動性チャンネルを温度応答行動の神経回路に導入し、行動中の神経活動をリモートコントロールする。

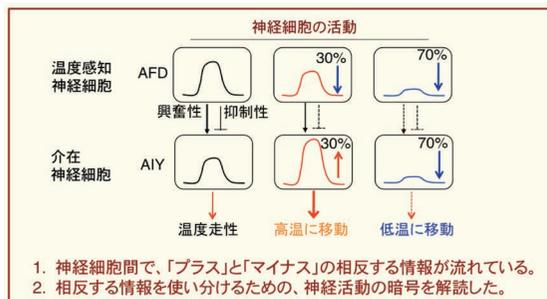


図2 神経ネットワークにおける情報処理の新しい暗号を解読

単一の感覚ニューロンが単一の介在ニューロンに興奮性と抑制性の相反する神経伝達。相反性の神経伝達を使い分けるための神経細胞の活動パターン。

- 1) Kuhara et al., *Science* 320, 803, 2008.
- 2) Kodama et al., *Genes & Development*, 20: 2955, 2006.
- 3) Kuhara & Mori, *J. Neurosci.* 26, 9355, 2006.
- 4) Kuhara et al., *Neuron*, 33, 751-763, 2002.
- 5) Kuhara et al., *Nature commun.*, 2: 355, 2011.
- 6) Ohnishi et al., *EMBO J.*, Vol. 30, 1376-1388, 2011.

久原 篤 (くはら あつし)

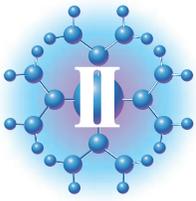
甲南大学 理工学部 生体調節学久原研究室 講師

2004 名古屋大・院理修了、学振 PD、名古屋大・院理 助手、助教、講師を経て2011 より現職。

井上研究奨励賞、遺伝学会奨励賞、赤崎賞、長瀬研究振興賞
研究内容：動物の環境応答

趣味：水泳、野球観戦 (中日ドラゴンズ)

Lab HP：「久原篤」で検索



線虫 *C. elegans* における嗅覚受容体の網羅的解析

広津 崇亮
ひろつ たかあき

九州大学大学院 システム生命科学府
九州大学 理学部生物学科

嗅覚は、食餌や生殖行動、危険からの回避など生存に必須な活動に重要な役割を担っている。匂い物質は嗅覚受容体によって受容され、動物は嗅覚行動を起こす。線虫 *C. elegans* も哺乳類と同様に、7 回膜貫通型 Gタンパク質共役受容体によって匂い物質を受容し、誘引、忌避といった化学走性行動を示す。興味深いことに、線虫のゲノム上には哺乳類以上の約1,200個の嗅覚受容体候補遺伝子が推定されている。しかし、ジアセチル受容体の ODR-10以外は匂い物質との対応がわかっておらず、線虫がいかにして多種の匂い物質を受容、識別しているのかその機構は不明なままである。そこで我々は、線虫の嗅覚受容体と匂い物質との対応関係を明らかにしたいと考えた。

我々はまず、嗅覚受容体候補遺伝子について網羅的に RNAi 法により遺伝子機能の阻害を行い、機能阻害株の匂い物質に対する走性を調べるスクリーニングを行った。RNAi ライブラリーに含まれていた822遺伝子について機能阻害を行い、11種の匂い物質に対する走性を解析した。匂い物質の内訳は、誘引物質6種、忌避物質2種、また最近我々は誘引物質を高濃度にするると忌避を引き起こすことを発見したことから、高濃度誘引物質(忌避性)3種である。コントロールと差が見られた条件については、2次、3次スクリーニングを行って再現性を確かめた。これまでに3次スクリーニングを終えており、194個の嗅覚受容体候補遺伝子を得ることに成功した(図1)。また11種全ての匂い物質について候補遺伝子が得られた(図2)。

得られた候補遺伝子については、実際に嗅覚神経に発現しているか、発現細胞の同定を進行中である。これまでに9遺伝子について同定が終わり、そのうち8個が嗅覚に関わる感覚神経に発現していることがわかった。そのうちの1つ、*srx-47*はAWA、ASH感覚神経に発現が観察された(図3)。*srx-47*は高濃度ジアセチルからの忌避に関与するものとして得られた遺伝子である。AWAはジアセチルの受容に、ASHは忌避物質の受容に関与することが既に知られており、SRX-47がそれらの感覚神経で高濃度ジアセチルの受容体として働いている可能性がある。ジアセチル受容体としては既に ODR-10が知られている。*odr-10*変異体は低濃度ジアセチルへの誘引行動には異常を示すが、高濃度ジアセチルからの忌避は正常だった。従ってジアセチルの受容については、濃度によって受容体を使い分けられている可能性が考えられる。



広津崇亮



谷口 群



桐山恵介



紙崎智子



佐藤則子



石原 健

今後は、候補遺伝子の発現細胞の同定をさらに進めていく予定である。嗅覚神経で発現が確認された遺伝子については、変異体を作製して行動解析を行うとともに、変異体の嗅覚神経の匂いに対する反応を観察する。これらの解析により、匂い物質とそれを受容する嗅覚受容体との対応関係を明らかにしたい。線虫は1,200個以上の嗅覚受容体を有している一方、嗅覚神経が十数個しか存在せず、哺乳類と異なり1つの嗅覚神経に複数の嗅覚受容体が発現している。そのような嗅覚神経でどのように複数の匂い物質を識別しているのか?このような疑問についても、本研究の成果は解決の糸口を与えることができるのではないかと期待している。

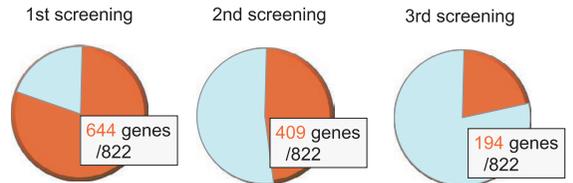


図1

3次スクリーニングまでの結果のまとめ。3次スクリーニングを終えて、1つ以上の匂い物質に関連が認められた遺伝子は194個であった。

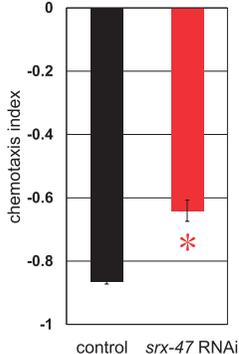
	匂い物質	候補遺伝子数
誘引物質	イソアミルアルコール	21
	ベンズアルデヒド	50
	ブタン	17
	ペンタンジオン	39
	ピラジン	56
	トリメチルチアゾール	22
忌避物質	ノナン	4
	オクタノール	10
	高濃度イソアミルアルコール	1
	高濃度ベンズアルデヒド	7
	高濃度ジアセチル	28

図2

3次スクリーニングの結果、11種すべての匂い物質について候補を得ることができた。

合計 285条件

(A) 高濃度ジアセチルからの忌避



(B) *srx-47* promoter (2.0kb) Venus

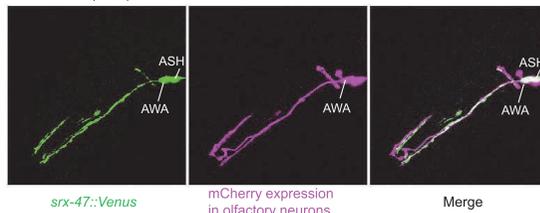
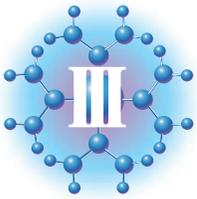


図3

srx-47 遺伝子の解析。(A) *srx-47* の RNAi により高濃度ジアセチルからの忌避に異常が引き起こされる。(B) *srx-47* は AWA、ASH 感覚神経に発現が観察された(写真は線虫の頭部を左から見たもの。嗅覚神経に mCherry を発現させて、発現細胞の同定の指標としている)。



ヒト PCNA のユビキチン化酵素 RAD6-RAD18 複合体の解析

増田 雄司 広島大学 原爆放射線医学研究所
 ますだ ゆうじ

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 のユビキチン化は観察されず、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 A)。しかし、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疑問であった。

最近我々は、ヒト PCNA のポリユビキチン化の分子機構が実は全く予想に反したものであることを見いだした。そ



増田雄司

鈴木美紀

神谷研二

の反応では、まず HLTF が UBC13 上にユビキチン鎖を合成し、そのユビキチン鎖を RAD6-RAD18 (E2-E3 複合体) の RAD6 上に転移する。その後 RAD6 上のユビキチン鎖は RAD18 の酵素活性により PCNA に転移する (図 2)。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 1 B)。一方で RAD6-RAD18 複合体のサブユニット構成は (RAD6-RAD18)₂ であると考えられており、UBC13 上に合成されたユビキチン鎖が (RAD6-RAD18)₂ の片方の RAD6 に転移した場合、それが選択的に利用される分子機構がなければ、TS を厳密に制御することができない (図 3 A)。

本研究では上述の疑問の解決するために、RAD6-RAD18 複合体の各サブユニットにタグを導入することで、それらを区別する方法を確立した。解析の結果、RAD6-RAD18 複合体のサブユニット構成が実は RAD6-(RAD18)₂ であることが判明した¹⁾ (図 3 B)。さらに、RAD6 と RAD18 の安定な結合がユビキチン転移反応に必要不可欠であるという結果を得た¹⁾。一般に E2 と E3 との相互作用はダイナミックであり、安定な複合体形成は RAD6-RAD18 にユニークな性質である。これらの特徴は、RAD6 に転移したポリユビキチン鎖が確実に PCNA に転移するために機能していると考えられ、我々が提唱する PCNA のポリユビキチン化のモデルを支持している。

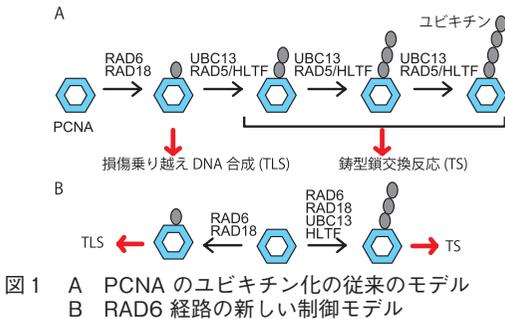


図 1 A PCNA のユビキチン化の従来のモデル
 B RAD6 経路の新しい制御モデル

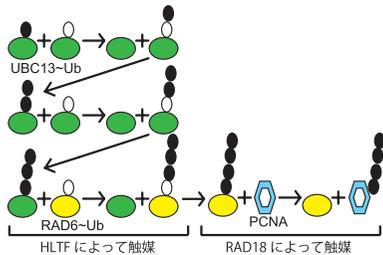


図 2 ユビキチン鎖合成の新しいモデル

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 を生成する。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。

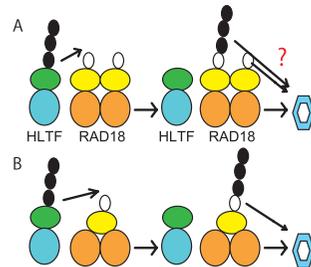
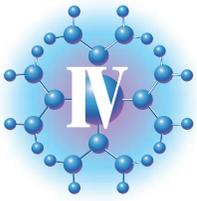


図 3 UBC13 から RAD6-RAD18 複合体へのユビキチン鎖の転移反応

A RAD6-RAD18 のサブユニット構成が (RAD6-RAD18)₂ であった場合、ユビキチン鎖を受け取った RAD6 が選択的に利用される必要がある。

B RAD6-RAD18 のサブユニット構成は実際には RAD6-(RAD18)₂ であり、受け取ったユビキチン鎖を確実に PCNA に転移することができる。

1) Masuda Y, Suzuki M, Kawai H, Suzuki F, Kamiya K. Nucleic Acids Res. (in press) (2012)



ミツバチの女王蜂分化誘導因子ロイヤラクチンの発見

鎌倉 昌樹 富山県立大学 工学部生物工学科
かまくら まさき

ミツバチは女王蜂と働き蜂からなる階級社会（カースト）を形成しており、同じ遺伝子型をもつ雌の幼虫のなかでも働き蜂の分泌するローヤルゼリー（RJ）を摂取した個体のみが女王蜂へと分化する。女王蜂は働き蜂に比べ、体サイズが1.5倍、寿命が20倍であり、1日に2,000個の卵を産むという特徴をもっている。これまでにこの女王蜂への分化のしくみについてはまったく明らかになっていなかった。そこで、筆者は、ミツバチの女王蜂への分化誘導機構の解明を試みた。

RJ中の女王蜂分化誘導因子を見出すためには、働き蜂の飼育系の構築が不可欠であったため、40℃で7日間、14日間、21日間、30日間保存したRJを作成し、それぞれのサンプルの女王蜂分化に対する影響を調べた。その結果、40℃で30日間保存したRJは完全な働き蜂を誘導することが分かった。次に、新鮮なRJと40℃で30日間保存したRJとの間で成分組成の違いを調べ、さらに違いが見出された成分において女王蜂分化に対する影響を観察した結果、ロイヤラクチンと命名したタンパク質がRJ中の女王蜂分化誘導因子であることを明らかにした（図1）¹⁾。



図1 ロイヤラクチンの女王蜂分化に対する効果

ロイヤラクチンを投与したミツバチ（右図）は、女王蜂として羽化し、コントロール（働き蜂：左図）に比べ、体の大きさの増加が見られた。スケールバー：5 mm。[文献1より転載]。さらに、ロイヤラクチンは発生期間の短縮、卵巣の発達など、女王蜂に見られる表現型を誘導した¹⁾。

次に、ロイヤラクチンの女王蜂への分化誘導における作用機構について解析を行った。ミツバチには保存されている変異体がないため、発生生物学の研究でよく用いられ多数の変異体の存在するショウジョウバエを女王蜂への分化誘導機構の解析のためのモデル生物として使えないかと考え、ショウジョウバエに対するRJの影響を調べた。その結果、ショウジョウバエの体サイズを増加させることのできるようなRJを含有する培地の組成をつきとめることに成功した（図2）¹⁾。さらに、RJの成分がショウジョウバエの表現型に及ぼす影響を検討し

た結果、ロイヤラクチンがショウジョウバエに対し女王蜂と同じような体サイズ、産卵数、寿命の増加を誘導することを明らかにした。このようなロイヤラクチンによる表現型の変化はロイヤラクチンをショウジョウバエの体内で過剰発現させた場合にもみられた（図3）¹⁾。

RJを含有する培地で種々のショウジョウバエ変異体を飼育し、ロイヤラクチンによるショウジョウバエの女王蜂様の表現型への変化に関するシグナルについて調べた。その結果、ロイヤラクチンはこれまで生物個体の体サイズや寿命などの制御に中心的な役割を担っていることが知られているインスリン受容体²⁾ではなく、脂肪体（哺乳類の肝臓に相当）のEGF受容体（EGF: epidermal growth factor, 上皮成長因子）に作用しその下流シグナルを活性化させることによりショウジョウバエの体サイズ、産卵数、寿命を増加させていることがわかった¹⁾。同様の結果は、ロイヤラクチン形質転換体を用いた解析でも見られた（図3）¹⁾。このように、ショウジョウバエを用いた解析から明らかになったロイヤラクチンによる活性化シグナルが実際にミツバチの女王蜂への分化に関与しているかどうかを確認するため、ミツバチのRNAi試験を中心に詳細な解析を実施した結果、ショウジョウバエを対象とした解析結果と一致した結果が得られ、ミツバチにおいてもロイヤラクチンがEGF受容体シグナルを刺激して女王蜂への分化を誘導していることが明らかになった。ミツバチのカースト分化はハチの生態の根幹をなす現象であることから、今回の研究成果は、今後のミツバチの安定供給のための女王蜂の飼育法の開発やミツバチが突然失踪する現象（蜂群崩壊症候群）の解明につながるものと期待できる。



鎌倉昌樹

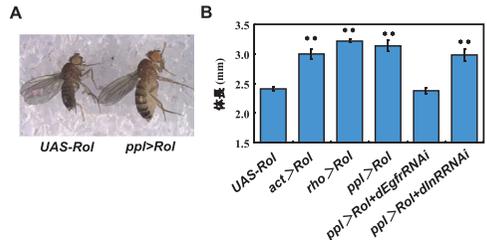


図3 ロイヤラクチンの過剰発現によるショウジョウバエの女王蜂様表現型の誘導

A: 脂肪体でGal4を発現させる系統 (*ppl-Gal4*) を用いてロイヤラクチンを脂肪体で過剰発現させた系統とコントロール (*UAS-ロイヤラクチン (Rol)*) 系統の写真。ロイヤラクチンを脂肪体で過剰発現させることで体長が増加した。

B: コントロール (*UAS-Rol*) 系統、全身でロイヤラクチンを過剰発現させた系統 (*act>Rol*)、EGF受容体シグナル特異的にロイヤラクチンを過剰発現させた系統 (*rho>Rol*)、脂肪体特異的にロイヤラクチンを過剰発現させた系統 (*ppl>Rol*)、脂肪体特異的にロイヤラクチンを過剰発現させた上でEGF受容体をRNAiにより抑制した系統 (*ppl>Rol+dEgfrRNAi*)、脂肪体特異的にロイヤラクチンを過剰発現させた上でインスリン受容体をRNAiにより抑制した系統 (*ppl>Rol+dInRNAi*) の体長の比較。USA-Rol に対し有意な差を持つ系統を $**p < 0.01$ によって示した。[文献1より転載]。

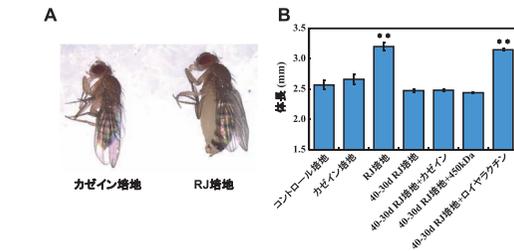
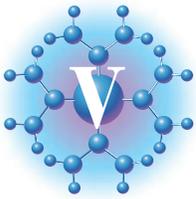


図2 ロイヤラクチンの摂取によるショウジョウバエの女王蜂様表現型の誘導

A: カゼイン培地（ローヤルゼリー（RJ）と同等の摂取エネルギーとなるように調整した培地）とRJ培地を摂取した野生型のショウジョウバエの写真。RJ培地の摂取により体サイズが増加した。B: コントロール培地、カゼイン培地、RJ培地、40℃で30日保存ローヤルゼリー（40-30d RJ）培地、40-30d RJにカゼインを添加した培地、40-30d RJに450kDaタンパク質を添加した培地、40-30d RJにロイヤラクチンを添加した培地で飼育したショウジョウバエの体長の比較。RJ培地とロイヤラクチンの摂取によりショウジョウバエの体長が増加した。コントロール培地投与群に対して有意な差を持つ群を $**p < 0.01$ によって示した。[文献1より転載]。

参考文献

- 1) Kamakura, M. Royalactin induces queen differentiation in honeybees. *Nature* 473, 478–483.
- 2) Colombani, J. et al. Antagonistic actions of ecdysone and insulins determine final size in *Drosophila*. *Science* 310, 667–70 (2005).



鉄硫黄クラスター生合成系、ISC マシナリーの中核を担う IscU タンパク質の *in vivo* 機能解析

田中 尚志 埼玉大学大学院 理工学研究科
たなか なおゆき



(左から) 高橋康弘、田中尚志、福山恵一、和田 啓

鉄硫黄 (Fe-S) クラスターは、無機硫黄原子と非ヘム鉄から成るコファクターで、このクラスターを持つタンパク質は総じて Fe-S タンパク質と呼ばれている。Fe-S タンパク質の構造と機能は多種多様で、エネルギー代謝から遺伝子発現制御に至るまで生命活動の根幹を担っている。これら Fe-S タンパク質の機能を支えているのが Fe-S クラスターの生合成系である。大腸菌の Fe-S クラスター生合成系、ISC マシナリーは7種類の成分から構成され、各成分が協調してクラスターを合成し、アポ型タンパク質へ受け渡していると考えられているが、その詳細な作動機構についてほとんどわかっていない。その中で IscU は、クラスターの新規形成を担う足場タンパク質として機能し、マシナリーの中心的な役割を担っている (図1)。本研究では、IscU の *in vivo* 機能解析を通じて、その作動機構に迫った。

近年私達は、超好熱細菌 *Aquifex aeolicus* (Aa) のホロ型 IscU の結晶構造を明らかにした。その Aa IscU の構造情報に基づいて、大腸菌 IscU のクラスター近傍のアミノ酸残基に対して系統的に部位特異的変異導入を行なったところ、IscU の *in vivo* 機能に必須なアミノ酸残基として新たに Tyr3, Asp39, Lys103 を同定した。次に私達は、これら IscU の機能残基が IscU の機能においてどのような役割を果たしているかを明らかにすることを目的に、大腸菌変異株を用いた新たな *in vivo* 実験系を構築することを計画した。大腸菌の Fe-S クラスター生合成系の変異株は致死性を示すが、この変異株に放線菌由来のイソプレノイド生合成系 (メバロン酸経路) の遺伝子群を導入しておくこと、培地に添加したメバロン酸に依存してわずかながら生育することを見出した (図2)。これは、大腸菌が持つ非メバロン酸経路に2種類の Fe-S 酵素が関与しているためである。これにより、Fe-S クラスター合成系の遺伝子群を自在に操作、解析することが可能になった。

この系を利用して、IscU の Tyr3 変異のサプレッサー変異を複数単離したところ、いずれの変異も IscS の活性部位近傍に位置していた。IscS は S 原子供与体として機能し、IscU と直接相互作用することが知られているが、結晶構造

では肝心な部分が見えていない。今回の結果から、IscU Tyr3 については、IscS の活性部位周辺の構造変化を誘起させる分子スイッチとしての機能が推定される。結晶構造では捉えられない IscU-IscS 間の微細な相互作用に迫ることができると考えている (図3)。

今後、変異 IscS の生化学的な性質や構造を調べることを計画している。また、新たに構築した *in vivo* 実験系を用いて、他の変異 IscU のサプレッサー変異を単離、同定し、IscU の作動機構の全貌を明らかにしていく予定である。

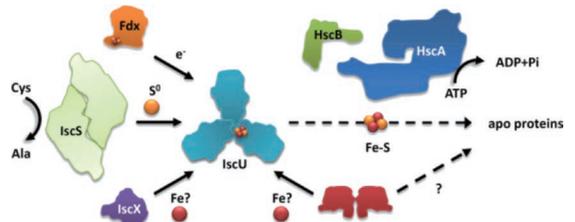


図1 大腸菌 ISC マシナリーの作動機構モデル

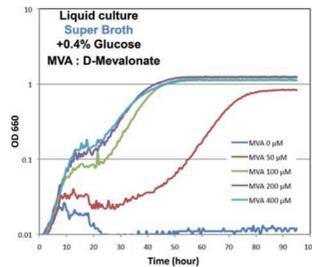


図2 メバロン酸経路の遺伝子群を導入した大腸菌変異株 (Fe-S クラスター合成系の欠損株) の生育曲線

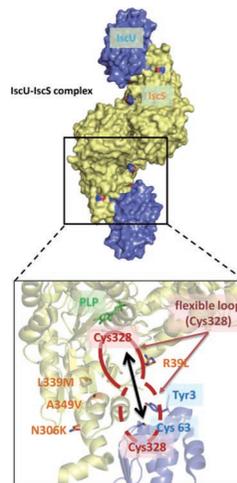
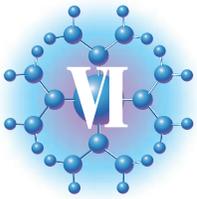


図3 IscU の機能残基 Tyr3 の役割

S 原子の受け渡しに際しては、IscS の活性残基である Cys328 を含む flexible loop (結晶構造ではディスプレイして見えていない) が、PLP の近傍から、IscU-Cys63 まで、大きく動く必要がある。今回同定した IscS のサプレッサー変異 (橙色) はすべて flexible loop の近傍、あるいは裏側に存在した。したがって、IscU の Tyr3 については IscS の構造変化を誘起し、flexible loop の大きな動きをコントロールする分子スイッチとしての役割が浮かび上がった。

参考文献

和田啓, 福山恵一, 高橋康弘, 化学と生物 Vol. 48, No. 12, 831-2010



核様体凝集蛋白質による複製開始促進因子 DARS2 (DnaA-reactivating sequence 2) の増殖相、及び細胞周期に応じた制御機構

加生 和寿
かしょう かずとし

九州大学大学院 薬学府
分子生物薬学分野

染色体 DNA 複製の開始反応は、1 細胞周期中 1 回しか起こらないよう制御されている。この反応を契機として、複製装置の集合、及び新生鎖合成が連発的に起こる。このように複製開始は細胞周期の適切な進行に必須である。当研究室では、複製開始因子の制御機構に着目し解析を行っている。

大腸菌では、複製起点 *oriC* と ATP 結合型 DnaA (ATP-DnaA) が形成する開始複合体が、*oriC* 内で 2 重鎖を開裂し、一連の複製反応を起こす^{1,2)} (Fig. 1A)。一方、ADP-DnaA は複製開始能を欠損している。細胞内 ATP-DnaA レベルは細胞周期に応じて変動し、複製開始時のみ上昇する³⁾ (Fig. 1B)。複製開始後、ATP-DnaA は DNA 装着型の DNA ポリメラーゼ III クランプサブユニットと Hda の複合体により、ADP-DnaA に不活性化される (RIDA)。一方で、適時的な ATP-DnaA 産生の制御機構は不明である。当研究室の研究により、DARS という特異的 DNA 配列が、ATP-DnaA 産生に重要であることが明らかになった⁴⁾。DARS は染色体上に少なくとも 2 ヶ所存在し (DARS1、及び DARS2)、ヌクレオチド交換により ADP-DnaA を ATP-DnaA へと変換する (Fig. 2)。DARS は、コア配列と制御領域から構成される。コア配列は 3 つの DnaA 結合配列から構成され、複製開始促進に必須である。制御領域は DARS 活性を促進するが、



片山 勉 加生和寿 藤光和之 毛谷村賢司 尾崎省吾

そのメカニズムは不明である。DARS2 の *in vitro* 活性は、蛋白質粗画分により顕著に促進される。一方、DARS1 では粗画分による促進はみられないことから、DARS2 特異的促進因子が存在すると考えられる。

我々は、DARS2 の配列解析により、促進因子の候補蛋白質 2 種を見出した。次に、これらの因子を精製し、組み合わせることにより *in vitro* で DARS2 活性を促進することに成功した。変異体解析により、これらの因子が細胞内においても DARS2 の促進に必須であることがわかった。さらに、これらの因子の DARS2 制御領域内の特異的結合部位が DARS2 促進に必須であることも示した。今回同定した因子は核様体凝集蛋白質に属しており、その 1 種は増殖相に応じて発現量が変動することから、増殖相に応じた複製開始制御に機能すると考えられる。さらに、核様体凝集蛋白質は細胞周期に応じた複製起点の制御や染色体の全体、及び局所構造の維持等にも機能しており、これらの制御と DARS2 の関係についても解析を行う予定である。

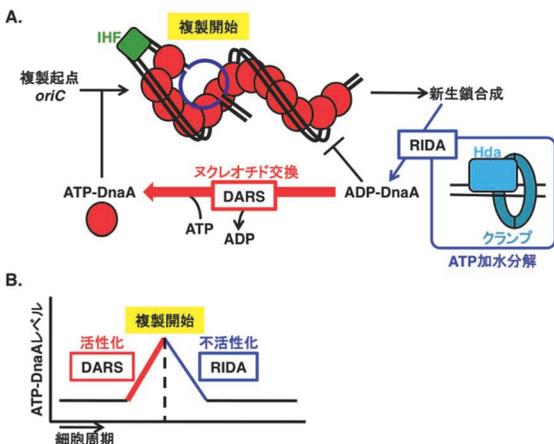


Fig. 1 複製開始因子 DnaA の細胞周期に応じた制御システム

A. 複製起点 *oriC* 上で ATP-DnaA が開始複合体を形成することで、*oriC* 内の二重鎖開裂が起こる。複製開始後、ATP-DnaA は RIDA 反応により ADP-DnaA に不活性化される。生じる ADP-DnaA は染色体上の特異的 DNA 配列 DARS により、ヌクレオチド交換が促進され ATP-DnaA に再活性化される。

B. 細胞内 ATP-DnaA レベルは、細胞周期に応じて変動し複製開始時のみ一過的に上昇する。複製開始後、ATP-DnaA レベルは RIDA により減少する。複製開始時の ATP-DnaA 蓄積に DARS が機能すると考えられている。

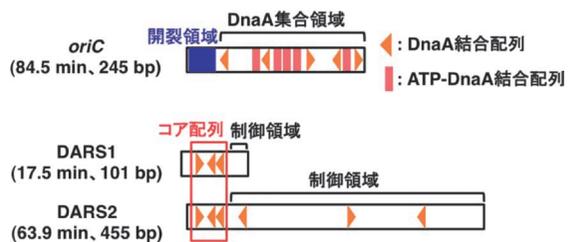
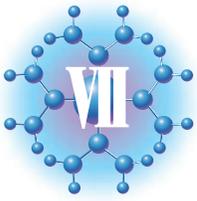


Fig. 2 複製起点 *oriC*、及び複製開始促進因子 DARS の機能構造

oriC は開裂領域、及び DnaA 結合配列から構成される。DARS1、及び DARS2 はコア配列と制御領域から構成される。コア配列は 3 つの DnaA 結合配列から構成され、複製開始促進に必須である。制御領域は、ヌクレオチド交換の促進に機能する。

【引用文献】

- 1) Katayama *et al*, 2010 *Nat. Rev. Microbiol.*
- 2) Ozaki and Katayama, 2011 *Nucleic. Acids. Res.*
- 3) Kurokawa *et al*, 1999 *EMBO J.*
- 4) Fujimitsu *et al*, 2009 *Genes. Dev.*



ヒト染色体異常疾患、4番染色体長腕部分重複症原因遺伝子の同定

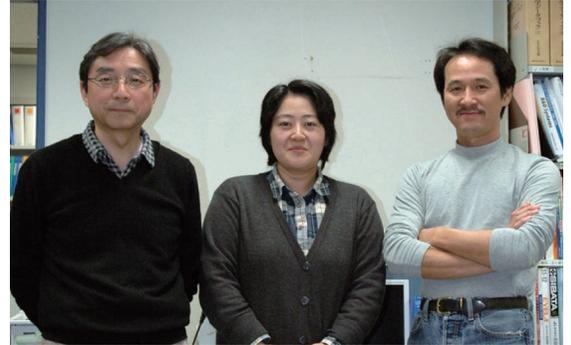
田村
たむら

勝
まさる

国立遺伝学研究所 系統生物研究センター
哺乳動物遺伝研究室

ヒト先天性染色体異常疾患（トリソミーやモノソミー）は、新生児の約1%に生じていると言われています。その表現型の多くは、染色体構造異常領域に存在する遺伝子の量的変化により引き起こされると容易に想像出来ますが、各々の表現型に結びつく原因遺伝子はほとんど同定されていないのが現状です。また、疾患研究を行う上で強力なツールであるモデル動物も、ダウン症モデルなど極限られた疾患のみにしか存在せず、このことも染色体異常疾患の研究が進んでいない一因として挙げることが出来ます。

ヒト4番染色体長腕部分重複症(4q+)は、文字通り4番染色体の長腕を重複し、成長不良、頭蓋顔面骨低形成、先天性心疾患、腎形成不全、軸前側多指症などの症状を示す染色体異常疾患で、原因遺伝子、表現型発症メカニズムは全く明らかにされていませんでした。私たちは、突然変異マウスの順遺伝学的解析から、4q+のモデルマウスであるRecombination-induced mutation 4 (*Rim4*)を見出しました(図1)。自然発症した不完全優性突然変異マウスである*Rim4*は、6番染色体に8番染色体約6.5Mbのゲノム断片



城石俊彦(左)、加藤依子(中央)、田村 勝(右)



図1 Recombination-induced mutation 4 (*Rim4*)

*Rim4*は、今から30年程前に国立遺伝学研究所・哺乳動物遺伝研究室で独自に見出された自然発症不完全優性突然変異マウスです。主な表現型として、*Rim4*ヘテロマウスは軸前側多指症を、*Rim4*ホモマウスでは重度の多指症を伴った半肢(矢印)を示し、また8割以上の*Rim4*ホモマウスは生後直ぐに死亡します。

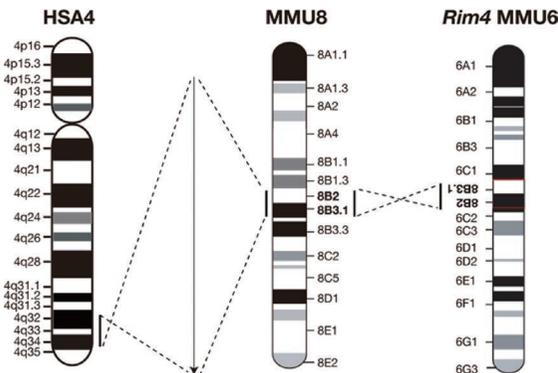


図2

ヒト4番染色体(HSA4)長腕4q32-q34とマウス8番染色体(MMU8)8B2-8B3.1の比較。4q32-q34と8B2-8B3.1領域は、ヒトマウス間で非常に良く保存されており、共通した17遺伝子が存在しています。但し、遺伝子の並び順は、マウスではセントロメアからテロメアへ(図中矢印)、ヒトではテロメアからセントロメアへの逆向きです。*Rim4*の6番染色体(*Rim4*MMU6)には、この8B2-8B3.1が挿入されています。従って、*Rim4*ヘテロマウスは、8B2-8B3.1の部分トリソミーマウスであり、4q32-q34を含む領域を重複した4q+のモデル動物であると言えます。

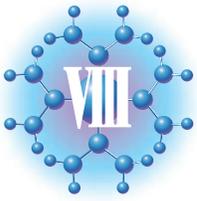
が挿入されています。この染色体重複領域には17の遺伝子が存在します。ヒトの相同領域である4番染色体4q32-q34には、対応する全ての遺伝子が位置しています(図2)。詳細な表現型解析の結果、*Rim4*の表現型は4q+の症状と多くが共通していることが判りました。従って、4q+と*Rim4*に共通する表現型の原因遺伝子は、*Rim4*重複領域6.5Mbに存在する17遺伝子のいずれかであると考えられます。

それでは、どの遺伝子の量的効果がいずれの表現型を引き起こすのでしょうか? この問題を解決する為に、私たちは*Rim4*遺伝的背景において責任候補遺伝子の遺伝子量補正を行う実験を行いました。具体的には*Rim4*と重複領域に存在する遺伝子のノックアウトマウスを交配する事により、目的遺伝子(責任候補遺伝子)のみを正常量に戻す実験です。*Rim4*; 遺伝子欠損二重変異体を作成し、その表現型解析を行った結果、多指症、先天性心疾患などは、転写因子*Hand2*の遺伝子量効果が原因である事が明らかになりました(図3)。このように、本研究では、マウス変異体を用いた厳密な遺伝解析により、ヒトとマウスに共通した染色体部分重複による表現型の原因遺伝子をはじめて特定することに成功しました。興味深い事に、*Rim4*と*Hand2*の二重変異体では、*Rim4*における頭蓋顔面骨低形成の一部のみが回復していました。この事は、4q+における頭蓋顔面骨低形成の原因が今回見つけ出した原因遺伝子以外にも存在する事を意味しています。今後は、この頭蓋顔面骨低形成に関与する第2の遺伝子や他の表現型、例えば神経系の障害などの原因遺伝子を同定して4q+表現型発症メカニズムに迫ると共に、遺伝子量効果の包括的理解を進めたいと考えています。



図3

左側:*Rim4* / + 右足 X線CT画像。親指の外側に過剰な指が形成されるにおける軸前側多指症(矢印)が観察されます。右側:*Rim4*ヘテロ;*Hand2*ノックアウトヘテロ二重変異体右足X線CT画像。*Rim4*ヘテロマウスで見られた軸前側多指症は、*Hand2*のみを正常遺伝子量に戻すことにより完全に正常型へ回復します。



Xist RNA の 5' 領域の X 染色体不活性化における役割

酒田 祐佳
さかた ゆか

九州大学 大学院医学系学府
九州大学 生体防御医学研究所

哺乳類では X 染色体数の違いに起因する雌雄間の遺伝子量の差を補償する為、雌は X 染色体を 1 本不活性化する。この X 染色体不活性化は胚発生初期に一方の X 染色体から転写される Xist RNA が、その X 染色体を覆うことで始まるエピジェネティックな遺伝子発現制御機構である。

X 染色体不活性化における Xist の重要性はその機能阻害が招く不活性化異常から明白であるが、Xist RNA がどのように X 染色体全域を覆い不活性化を引き起こすのかについては未だ不明な点が多い。我々のグループは Xist RNA の作用機序を知るために、内在性 Xist 遺伝子座から正常には機能できないと考えられる RNA を発現させ、それが X 染色体不活性化に及ぼす影響を調べるというアプローチをとっている。以前 Xist RNA の機能に必須であることが示されていた 5' 近傍に存在する種間で保存された反復配列 (A リピートと呼ばれる) を欠失させたところ、意外にも Xist RNA の転写自体が損なわれることがわかり、変異 Xist RNA を発現させることはかなわなかった。そこで今回我々は、A リピートを欠失した Xist RNA を内在性 Xist プロモーターの代わりに CAG プロモーターで強制的に発現させられるよう工夫した改変 Xist アレル (Xist^{CAGΔ5'}) をジーンターゲットングによって新たに作製し、マウスに導入した。マウスの場合、将来胎盤になる胚体外組織では父方 X 染色体 (Xp) が不活性化するようインプリントされているため、母方 X 染色体 (Xm) から Xist RNA が発現されることはない。したがって、Xist^{CAGΔ5'} を父親から受け継いだ胚 (+/Xist^{CAGΔ5'}) の胚体外組織は、Xp から強制的に発現される Xist^{CAGΔ5'} RNA の不活性化能を評価するための良い系となる。父由来 Xist^{CAGΔ5'} アレルを持つ 7.5 日胚は野生型に比べ胚体外組織の発生が著しく損なわれていたことから、Xp 不活性化の破綻が示唆された (図 1) が、その場合でも Xist^{CAGΔ5'} RNA は野生型の Xist RNA 同様 Xp を覆っている様子が RNA-FISH によって確認された (図 2)。さらに、この Xp 上の遺伝子が十分にサイレンシングされていないことも、RT-PCR と RNA-FISH (図 3) により確認できた。また、不活性 X 染色体を特徴づけるヒストン修飾として知られる H3K27me3 についても、Xist^{CAGΔ5'} RNA のシグナルと同様の局在を示すことがわかった。本研究で、我々はようやく A リピートを欠失した



佐々木裕之 保木裕子 酒田祐佳 佐渡敬 尼川裕子

変異 Xist RNA をマウス胚で発現させることができ、それが十分な X 染色体不活性化を引き起こせないことを *in vivo* の系で初めて示すことができた。さらに、A リピートのない Xist^{CAGΔ5'} RNA でも H3K27me3 の修飾を誘導できる事が明らかになったのは大変興味深い。今後も、Xist^{CAGΔ5'} RNA が X 染色体のエピジェネティック修飾や不活性 X 染色体に特徴的なタンパク質の局在に及ぼす影響について解析を続け、Xist RNA の作用機序を知る手掛かりとしたい。

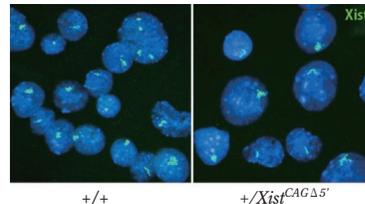


図 2 野生型及び +/Xist^{CAGΔ5'} 胚の胚体外組織における Xist RNA の発現

+/Xist^{CAGΔ5'} においても変異 Xist RNA の発現がそれぞれの核で検出された。(青: DAPI)

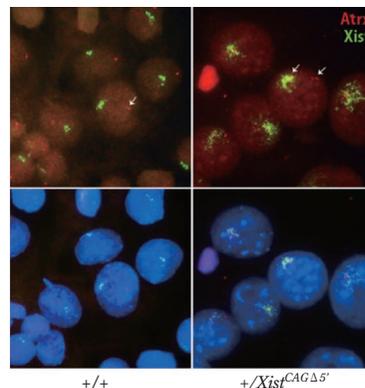


図 3 胚体外組織における Xist RNA と X 染色体連鎖遺伝子 Atrx の RNA-FISH 解析

野生型では Atrx のシグナルはそれぞれの核で Xm からのみ観察されるが、+/Xist^{CAGΔ5'} 胚では Atrx と Xist RNA のシグナルが重なって観察されることから、Xist^{CAGΔ5'} RNA に十分なサイレンシング能がないことが示唆される。矢印は Atrx のシグナルを示している。

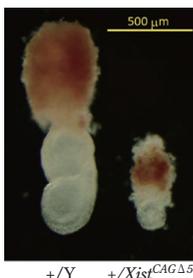
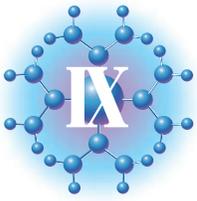


図 1 7.5 日目 +/Xist^{CAGΔ5'} 胚と同腹のオスの形態



ネオセントロメア形成の分子基盤

石井浩二郎 大阪大学大学院 生命機能研究科
いしいこうじろう

セントロメアは、細胞分裂の際に染色体分配装置であるスピンドル微小管と特異的に相互作用するゲノム DNA 領域です。そのため、セントロメアの存在は染色体の均等な分配と忠実な維持に必須となります。ある要因で染色体がセントロメアを失ってしまった場合、その染色体は細胞分裂時に染色体分配装置から脱落して細胞から完全に失われてしまうことが予想できます。すなわち、染色体を安定に維持していくためには、その染色体上にセントロメア領域が必ず一つ存在する必要があるのです。しかしながら、細胞は染色体の維持という目的を達成するため、セントロメア領域の形成や染色体の本数などに関しては、予想を越えて柔軟な対応能力を持ち合わせているように見受けられます。私たちは、そのような染色体編成のもつ柔軟性の本質を、分子レベルで解き明かしていきたいと考えています。

染色体編成の柔軟性を示す一つの例として、ネオセントロメア形成現象が挙げられます。ネオセントロメア形成は、それまでセントロメア機能とは無関係であったゲノム領域がセントロメア機能を果たし始める現象です。これまでヒトやいくつかの生物においてネオセントロメア形成は報告されてきました。私たちは、分裂酵母をモデル生物として、セントロメアを条件的に染色体から排除する実験系を樹立しました(図1)。そうしてそのようなセントロメアを失った染色体を保持し続けている細胞を遺伝的に選択して単離した結果、そのような細胞ではネオセントロメア形成が起きていることを見出しました(図2)。自分たちの手で誘導的に再現性よく形成されるネオセントロメアは、その染色体のテロメアヘテロクロマチンの近傍に隣接する場所にマップされました。現在、ヘテロクロマチン構造のネオセントロメア形成への寄与に関して研究を進めています。

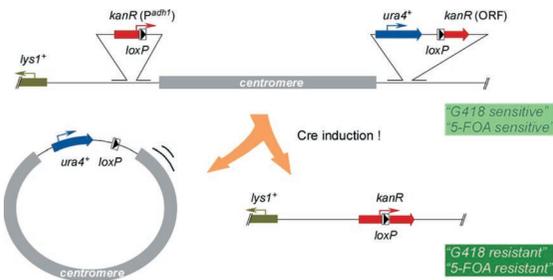
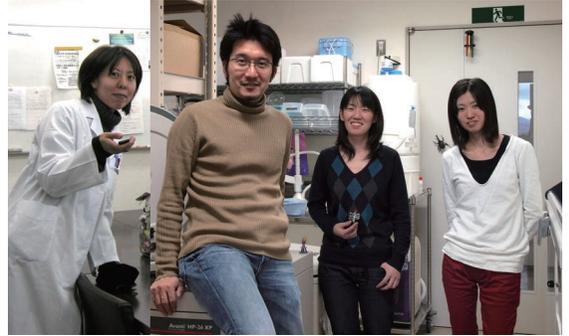


図1 セントロメア破壊アッセイ

部位特異的組換え酵素 Cre を条件的に発現させることにより、40–100kb のセントロメア領域を染色体から排除する。さらに、セントロメアを失った染色体の再結合部分で発現し始める遺伝子が与える G418耐性と、染色体外となったセントロメア領域染色体が細胞外に排除されたことを表す ura4+ 遺伝子の欠如が与える 5-FOA 耐性を指標として、染色体再編成によって生存可能となったセントロメア破壊細胞を遺伝的に選択する。



副島朋子 石井浩二郎 荻山友貴 大野悠子

一方で、私たちのセントロメア破壊実験は、ネオセントロメア形成以外の染色体再編成も導き出しています。それは、染色体末端同士が融合したテロメア融合細胞です(図2)。そのような細胞では染色体の本数が1本減少していました。興味深いのは、テロメアとは本来そのような染色体融合が起こらないように機能している点です。セントロメアの欠如という一見テロメアとは無関係な事象によって、あたかもテロメア機能を変貌しているかのように見受けられます。現在私たちは、その具体的な分子機構についても解明を進めています。

ネオセントロメア形成もテロメア融合も、生物の進化の過程では頻繁に見出される現象です。私たちの研究によって、その分子機構に理解が得られるようになることを期待しています。

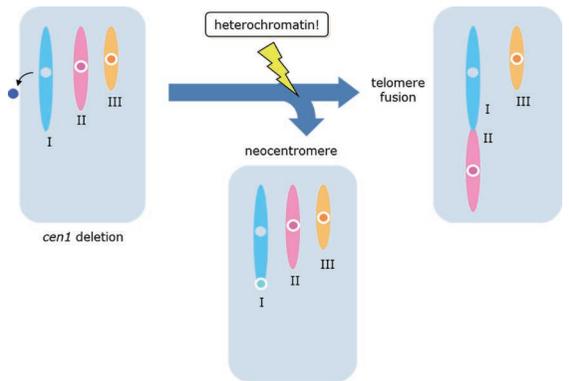
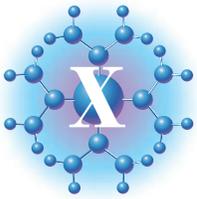


図2 セントロメア破壊を生き延びる二種類の染色体再編成

分裂酵母においてセントロメア破壊を行うと、ネオセントロメア形成細胞とテロメア融合細胞の二種類の染色体再編成獲得細胞が得られた。その相対的な出現頻度は細胞内のヘテロクロマチンの状態によって調節されていた。



8-oxoguanine は DNA 鎖切断を誘発することで減数分裂期の相同染色体組換え頻度を上昇させる

大野みずき 九州大学大学院 医学研究院
おのの 基礎放射線医学分野

私は「ほ乳類ゲノムの多様性を生み出す原動力は何か？」を理解することを目指して、特に酸化損傷塩基の寄与に注目して研究を展開しています。ほ乳類では配偶子形成過程での相同染色体組換えやその後の受精により、親とは異なる組み合わせの塩基配列を生み出し、積極的に多様性を確保しています。減数分裂期の相同染色体組換えは特定の酵素が能動的に DNA 二重鎖切断を導入することで開始されますが、DNA 損傷剤によって誘発された二重鎖切断から



作見邦彦 中別府雄作 大野みずき 中西恵美 續 輝久 古市正人

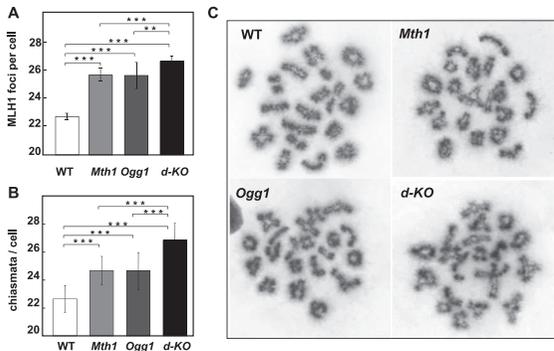


図 1. 減数分裂期の相同染色体組換え頻度

生殖可能週令に達したオスマウスの精巣より分離した生殖細胞を用いて相同染色体組換え頻度を解析した。A) パキテン期の核における組換えスポットの数 (MLH1 foci) をカウントし、結果の平均値と SD を示している (mean ± SD, 30 cells / sample, n=4, **p < 0.001, ***p < 0.0001)。B) 第一減数分裂の染色体標本におけるキアズマの数をカウントした (mean ± SD, n=33, ***p < 0.001)。C) 第一減数分裂の染色体。組換え点がキアズマとして観察される。

でも組換え反応が誘導されることが報告されています¹⁾。これまでに私たちはヒトゲノム中にはグアニンの酸化体である 8-oxoguanine (8-oxoG) が局在する領域があり、その領域では組換え頻度が高いことを見出していました²⁾。そこで 8-oxoG が減数分裂期の相同染色体組換え頻度に影響するかどうかを検証する為に、*Ogg1*^{*}、*Mth1*^{**} およびその両方を欠損した d-KO を用いて減数分裂期の組換え頻度と生殖細胞中の DNA 鎖切断の頻度を解析しました。遺伝子欠損マウス 3 系統全てで野生型マウスと比較してパキテン期の細胞における組換えスポット (MLH1 foci を指標) の数と、第一減数分裂期の染色体標本におけるキアズマの数が有意に上昇していることが確認されました (図 1)。また、減数分裂前期の細胞で DNA 二重鎖切断の頻度が遺伝子欠損マウスで上昇しており (図 2)、 γ H2AX、Rad51 の免疫染色性の上昇も確認されました。さらに野生型マウスへの 8-oxo-deoxyguanosine の投与は担体や deoxyguanosine を投与した場合と比較して有意にキアズマ頻度を上昇させることを明らかにしました。これらの結果よりゲノム中あるいはヌクレオチドプール中に存在する 8-oxoG 量の増加は生殖細胞中で DNA 鎖切断を誘発し、相同染色体組換え頻度に影響を及ぼしていると考えられました。

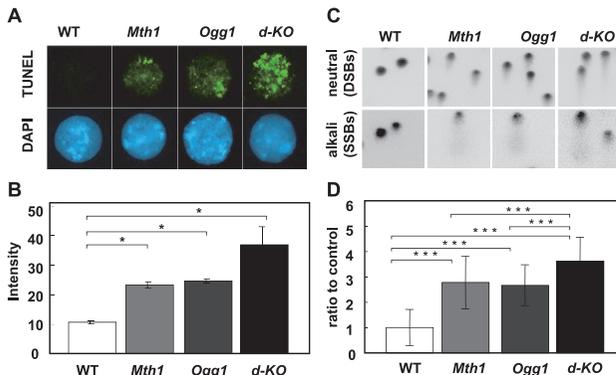
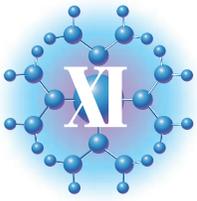


図 2. 第一減数分裂前期の細胞における DNA 鎖切断

生殖可能週令に達したオスマウスの精巣より分離した生殖細胞を用いて DNA 鎖切断を解析した。A) DNA の切断箇所を 3'-OH 末端を蛍光色素ラベルしたヌクレオチドを酵素学的に付加することで可視可し (TUNEL, 緑色)、核 DNA を DAPI で染色した (青色)。B) TUNEL シグナルの蛍光強度を画像上で定量的に解析した (mean ± SD, n=200, ***p < 0.0001)。C) コメットアッセイ法による二本鎖切断 (上段中性条件)、一本鎖切断 (下段アルカリ条件) を検出。D) 中性条件 (二本鎖切断) で泳動したサンプルのコメットテールの長さを定量した (mean ± SD, n=100, ***p < 0.0001)。

活性酸素は放射線、化学物質、大気中の酸素濃度などの地球上の環境因子や、細菌感染、疾病などの生物学的環境の変動に伴って細胞内で発生し核酸を酸化します。従って酸化損傷核酸は全ての生物に共通の遺伝的変異のリスクファクターであり、ゲノム多様性を誘発する主要な原因となっていると考えています。

- 1) Romanienko PJ, Camerini-Otero RD. Mol Cell. 5: 975-87, 2000
 - 2) Ohno M. et al., Genome Res. 5: 567-75, 2006
- * *Ogg1* : NA 中の C に対した 8-oxoG を切り出す活性を持つ酵素の遺伝子
- ** *Mth1* : 8-oxo-dGTP を 8-oxo-dGMP に分解する活性を持つ酵素の遺伝子。



イネの集団ゲノム解析による栽培化関連遺伝子領域の探索

角 友之 総合研究大学院大学 先導科学研究科
かど ともゆき

栽培化関連遺伝子の探索を目的として、栽培イネ (*Oryza sativa*) のインディカ集団12系統・ジャポニカ集団10系統、野生イネ集団 (*O. rufipogon*) 10系統、外群1系統のゲノム再配列決定をおこない、ゲノム多型を調べた。栽培化関連遺伝子の近傍領域は、人為淘汰の影響によって、栽培集団中の遺伝的変異が著しく減少することが期待される。したがって、野生集団と栽培集団の遺伝的変異量をゲノムワイドに比較することによって、栽培化関連遺伝子の候補領域を探索することができる。

データ解析の詳細は省くが、簡単な結果については図1

寺内 阿部 吉田 夏目 植村 三岡 小杉 石井

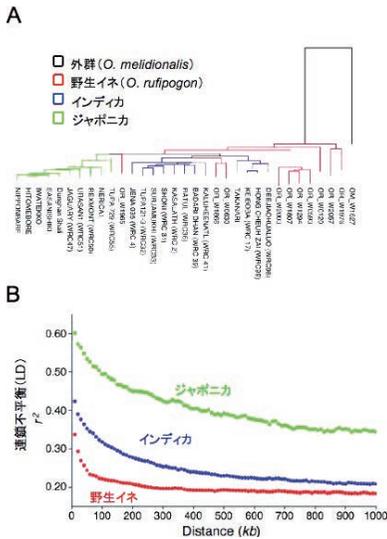


図1. サンプル個体間の遺伝的関係と各集団の連鎖不平衡 (LD)

(A) 全ゲノム領域を用いたサンプル間の遺伝距離に基づくNJ系統樹。(B) 野生・インディカ・ジャポニカ集団の連鎖不平衡係数とSNPs間距離の関係。100kb程度の距離でLDは減衰する。LDの結果から、候補領域は、>100kb程度の範囲で絞り込めることが期待される。

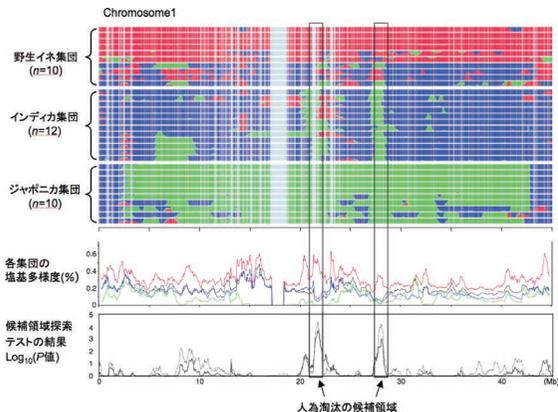


図2. 第1染色体の変異パターン

上から、STRUCTURE (Linkage Model) による個体及び染色体領域間のクラスタリングパターン・各集団の変異量 (塩基多様度)・コアレッセントシミュレーションに基づく候補領域の探索テストの結果。探索テストの結果を用いて、候補領域を選定した。

と図2に示す。最終的に、計11領域を候補として絞り込んだ。各領域は、400kb ~ 1.5Mb 程度の範囲で、54~180個の遺伝子を含んでいた。さらに、候補遺伝子を絞り込むために、栽培集団で非同義サイトや転写開始点近傍の変異型アレルが固定している遺伝子をリストアップした。また、ゲノム多型の解析のみでは、これらの領域でどのような形質に対する淘汰が働いたかを明らかにできないため、イネのQTLデータベースの中から、特に栽培化に関連する形質である脱粒性・芒長・休眠性のQTLに注目し、ゲノム上の位置を比較した。

まず、既知の栽培化関連遺伝子として知られている2遺伝子 (脱粒性に関する *sh4* 遺伝子と、直立性に関する *Prog1* 遺伝子) が候補領域内に含まれた (図3 AB)。当然であるが、*sh4* 遺伝子を含む領域の近傍には、脱粒性のQTLが存在した。この結果は、本研究の手法の有効性を示している。この2遺伝子やトウモロコシの有名な栽培化遺伝子である *tb1* 遺伝子などは、転写因子である。そこで、固定変異をもつ転写因子に注目すると、3領域に5つの遺伝子が見つかった (図3 CDE)。この内2領域 (図3 CE) には、脱粒性・芒長・休眠性に関連するQTLのすべてが近傍に位置しており、これらの形質に対する淘汰が働いたと推察される。また、残りの6領域中5領域に種子貯蔵タンパク質関連遺伝子が含まれており、3遺伝子で固定変異が見られたことも興味深い。もちろん、他にも候補遺伝子は多数あり、これらの中から真の栽培化関連遺伝子を見つけることは、今後の課題である。

次世代シーケンサーの普及で、本研究のようなゲノム多型解析は、急速に現実的な手法になってきた。今後、多くの栽培作物や家畜でもスタンダードな手法になると予想される。

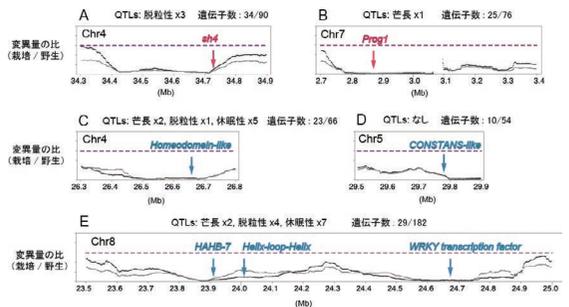


図3. 栽培化関連の候補領域 (一部のみ)

(AB) 既知の栽培化関連遺伝子を含む領域。(CDE) 栽培集団で固定変異をもつ転写因子を含む領域。図中の破線は、変異量の比 (栽培/野生) のゲノム平均。QTLsは、領域近傍の栽培化関連形質のQTLマーカー数。遺伝子数は、「固定変異をもつ遺伝子数」/「領域中の全遺伝子数」。

Genes & Genetic Systems 第86巻5号 (付録)
2012年2月10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://wwwsoc.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。