

若手研究者が語る

21世紀の遺伝学 (XII)

日本遺伝学会第87回大会 Best Papers 賞

I

非モデル種 *Drosophila subobscura* での CRISPR/Cas9 による変異誘発

○村上日向、山元大輔、田中良弥、伊藤弘樹
(東北大学 理学部生物学科 脳機能遺伝分野)

II

メス化およびオス化がショウジョウバエ Neo 性染色体の偽遺伝子化を促進する

○野澤昌文
(国立遺伝学研究所 生命情報研究センター)

III

マウス変異蓄積システムを利用した生殖系列の突然変異率の推定とその特徴

○内村有邦¹、樋口真弓¹、新見恵理¹、水口洋平²、豊田 敦²、藤山秋佐夫²、西野 穰³、八木 健¹
(¹大阪大学 生命機能研究科、²国立遺伝学研究所 生命情報研究センター 比較ゲノム解析研究室、³名古屋大学 医学系研究科)

IV

大腸菌 *oriC* での複製開始に必要な DNA 開裂複合体の中核構造の解明

○崎山友香里、野口泰徳、川上広宣、片山 勉
(九州大学大学院 薬学府 分子生物薬学分野)

V

Molecular analysis of site-specific recombination mediated by XerA from *Thermoplasma acidophilum*

○Minji Jo, Yasuhiro Tsutsui, Hiroshi Iwasaki
(Department of Life Science, Graduate School of Bioscience and Biotechnology, Tokyo Institute of Technology)

VI

分裂酵母における複製 DNA ポリメラーゼの機能分担のゲノム科学的解析

○大学保一¹、Andrea Keszthely²、宮部 泉²、Antony M. Carr²
(¹東北大学 学際科学フロンティア研究所、²Genome Damage and Stability Centre University of Sussex, UK)

VII

タンパク 3 次構造を考慮した、がんのドライバー遺伝子の検出

○藤本明洋¹、岡田随象^{1,2}、キース・ボロエビッチ¹、角田達彦¹、谷口浩章¹、中川英刀¹
(¹理化学研究所 統合生命医科学研究センター、²東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科)

VIII

ヒストン脱アセチル化酵素によって制御される植物の新規乾燥耐性機構

○金 鍾明¹、藤 泰子²、関 原明¹
(¹理化学研究所 環境資源科学研究センター 植物ゲノム発現研究チーム、²東京大学 大学院理学系研究科 生物科学専攻)

IX

ヒト化ショウジョウバエを用いた脊椎動物の超保存配列の機能解析

○大迫隆史¹、松田 健²、都丸雅敏³、高野敏行³
(京都工芸繊維大学 ¹高度技術支援センター、²応用生物学専攻、³ショウジョウバエ遺伝資源研究部門)

X

トゲウオ科魚類近縁種間の雑種不稔とクロマチン結合タンパク質の機能的分化

○吉田恒太、石川麻乃、北野 潤、牧野能士
(国立遺伝学研究所 生態遺伝学研究部門)

GSJ コミュニケーションズ

Proceedings of the Society

平成28年(2016) 1月 日本遺伝学会幹事会 編集

目 次

Best Papers 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 非モデル種 *Drosophila subobscura* での CRISPR/Cas9 による変異誘発

村上 日向

4

II メス化およびオス化がショウジョウバエ Neo 性染色体の偽遺伝子化を促進する

野澤 昌文

5

III マウス変異蓄積システムを利用した生殖系列の突然変異率の推定とその特徴

内村 有邦

6

IV 大腸菌 *oriC* での複製開始に必要な DNA 開裂複合体の中核構造の解明

崎山友香里

7

V Molecular analysis of site-specific recombination mediated by XerA from *Thermoplasma acidophilum*

Minji Jo

8

VI 分裂酵母における複製 DNA ポリメラーゼの機能分担のゲノム科学的解析

大学 保一

9

VII タンパク 3 次構造を考慮した、がんのドライバー遺伝子の検出

藤本 明洋

10

VIII ヒストン脱アセチル化酵素によって制御される植物の新規乾燥耐性機構

金 鍾明

11

IX ヒト化ショウジョウバエを用いた脊椎動物の超保存配列の機能解析

大迫 隆史

12

X トゲウオ科魚類近縁種間の雑種不稔とクロマチン結合タンパク質の的分化

吉田 恒太

13

BP 賞選考内規

14

Best Papers 賞は「受賞歴」です

遠藤 俊徳 (BP 賞選考委員長)

遺伝子検査などのサービスが一般に浸透しつつある中、ヒトを含む全ての生物に共通する不変原理と、生物種に固有な現象を記載する遺伝学研究は、技術革新に後押しされ、かつてないほど重要性を高めています。日本遺伝学会は2001年に Best Papers 賞を開始し、才能と情熱を傾けた結果として選ばれた成果を褒賞することで、将来のキャリアアップに結びつく「受賞歴」に一行を加えることで、研究者育成の一助となることを目指しました。「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う」精神が受け継がれて今日に至っています。特に駆け出しの研究者にとって貴重な一行になるはずです。

第87回大会でも素晴らしい研究発表が Best Papers (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。良い研究成果を、所定の時間枠で意欲の伝わるわかりやすい発表に努められた結果だと思います。上位には良い演題が多数並んでいたため、惜しくも僅差で受賞を逃した方もいらっしゃいました。今期受賞者も含め、次期も是非頑張ってくださいと思います。

評価は例年通り、評議員、編集顧問、編集委員、幹事、座長からなる60名ほどの審査員による記名投票で行いました。会場により聴講者数に大きな偏りがあるため、公平性の観点から一般投票とするのが難しく、指定審査員に聴講演題を併せて記録していただくことで補正し、さらに集計後調整することで、聴講者数の偏りによる不公平を軽減しています。

学会にて発表を行い、また参加された会員の皆様、大会準備に関わった皆様、座長ならびに発表や質疑応答、当日の受付・会場係など、様々な形で大会を盛り上げていただいた関係者・参加者の皆様に、この場を借りて深く感謝申し上げます。

今回の受賞演題から、次期の三島大会のプレナリーワークショップにおける受賞講演が選ばれます。研究内容はもちろん、発表も質が高く、研究対象が異なって参考になるものばかりです。総会前の他講演と重ならない時間枠に発表時間が設定されますので、ぜひご聴講ください。



非モデル種 *Drosophila subobscura* での CRISPR/Cas9 による変異誘発

村上 日向 東北大学 理学部生物学科
むらかみ ひなた 脳機能遺伝分野

ショウジョウバエの雄は、雌と出会ってから交尾をするまでに一連の決まった行動をとります。例えば、代表的なモデル生物であるキイロショウジョウバエでは、雄が雌を見つけると雌の方に体を向け（定位）、雌の後ろから接近し、雌の腹部を触り（タッピング）、片翅だけを震わせて求愛歌を奏でながら雌を追いかけ、雌の交尾器を舐め（リッキング）、最後に腹部を曲げて交尾試行をします。また、このようなキイロショウジョウバエの一連の求愛行動を実現するのに、性決定遺伝子のひとつである *fruitless* 遺伝子が中心的な役割を果たしていることが知られています。GAL4-UAS システムを用いて、*fruitless* 発現神経細胞において、温度感受性イオンチャネルである *dTrpA1* チャネルを人工的に発現させた個体では、温度を上げると *dTrpA1* チャネルが開くため、高温下で *fruitless* 発現神経細胞を強制的に興奮させることができます。実際にそのような雄を高温にさらすと、雌がいなくてもかわらず求愛している様子が観察されることから、*fruitless* 発現神経細胞がキイロショウジョウバエの求愛行動の解発を担っていることが明らかにされてきました。

一方で、私たちは *Drosophila subobscura* の求愛行動に注目しています。この種の雄は求愛中に自身の消化管の内容物を吐き戻し、雌に婚礼ギフトとして与えます。興味深いことに、求愛中に吐き戻しを行い、雌にギフトを与えるのは、ショウジョウバエ属の中では *Drosophila subobscura* に限られた行動です。しかしながら、このような求愛行動の種間差がどのような神経システムの違いによって生じるのか、ということはまだ解明されていません。

このテーマにアプローチしていくにあたって、*Drosophila subobscura* においてもキイロショウジョウバエで行われてきたように GAL4-UAS システムを適用し、*fruitless* 発現神経細胞を強制的に活性化あるいは抑制できる個体を作製したいと考えています。最終的には、そのような *Drosophila subobscura* 個体を用いて、*fruitless* 発現神経細胞を強制活性化した際の行動実験や、成虫脳の蛍光染色などを行うことで *Drosophila subobscura* に特有の求愛行動を引き起こす神経システムを解明することを目標としています。



図1 キイロショウジョウバエの求愛行動

Yamamoto D., Sato K., 2013 より一部改変



山元大輔 村上日向 田中良弥 伊藤弘樹

たがって、*Drosophila subobscura* に *fruitless-GAL4*、*UAS-dTrpA1* といった人工遺伝子を導入していきたいところですが、*Drosophila subobscura* には可視マーカーとして利用できる *yellow* 変異、*white* 変異が存在しません。そこで私たちは CRISPR/Cas9 システムを用いて *Drosophila subobscura* の *yellow* 変異体、*white* 変異体の作製に取り掛かりました。

実際に、*yellow* 遺伝子、*white* 遺伝子、それぞれの変異体の作製に成功しています。また、部位特異的に人工遺伝子を挿入することができる *attP* 配列と *yellow⁺* 遺伝子を同時に持つベクターの挿入によって *yellow* 変異体の表現型をレスキューすることにも成功しており、得られた *yellow* 変異を可視マーカーとして利用出来ることがわかりました。

こうして、非モデル生物である *Drosophila subobscura* においても、これまでキイロショウジョウバエで行われてきたような遺伝解析を進めていく準備が整いつつあります。今後は、*yellow* 変異体に挿入することができた *attP* 配列を利用して、様々な人工遺伝子を導入することを計画しています。*fruitless-GAL4*、*UAS-dTrpA1* の両人工遺伝子を同時に持つ個体を作製し、*Drosophila subobscura* において *fruitless* 遺伝子発現神経細胞の強制活性化を実現させることで、この種に特有の求愛行動を生み出す神経システムを解明したいです。

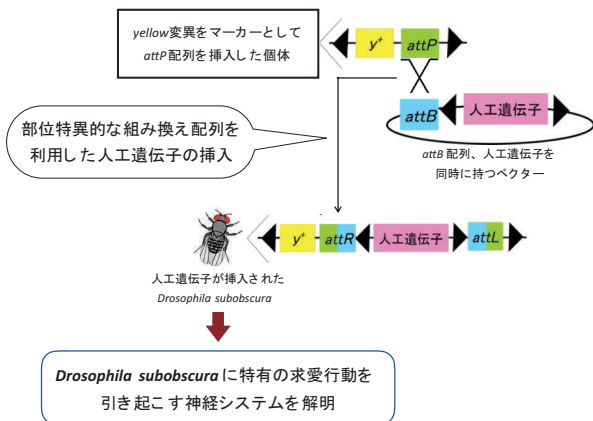


図2 今後の展望



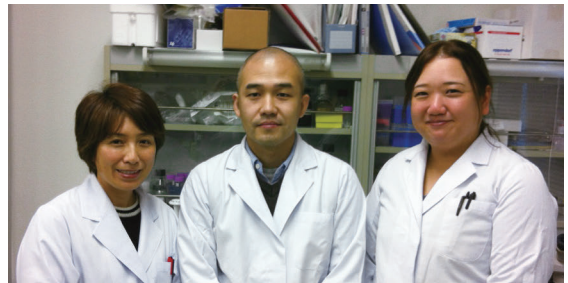
メス化およびオス化がショウジョウバエ Neo 性染色体の偽遺伝子化を促進する※

野澤 昌文 国立遺伝学研究所 生命情報研究センター
の ざわ まさふみ ター

性染色体は様々な生物において独立に誕生してきたことが知られている。性染色体が生じると、多くの Y 染色体は、① X 染色体との組換えが抑制される、② 集団サイズが常染色体の 4 分の 1 になる、という理由から、有害な変異を除去できずに退化していく。一方で X 染色体も、① オスにおける組換えの機会を失う、② 常染色体に比べて集団サイズが 4 分の 3 に減少する、ことから退化する可能性があるが、これまで X 染色体の退化についてはほとんど検証されていない。

そこで本研究では、ミランダショウジョウバエ (*Drosophila miranda*) が持つ起源の新しい Neo 性染色体に着目し、Neo-X 染色体における偽遺伝子化の速度とその要因について調べた。まず、*D. miranda* とその近縁種である *D. pseudoobscura* と *D. obscura* のゲノムおよびトランスクリプトーム配列を比較したところ、Neo-X における偽遺伝子化の速度は Neo-Y における速度と比べて 3 分の 1 程度であった。しかし、Neo-X 上の遺伝子は常染色体に比べると約 2 倍の速度で偽遺伝子化していた。このことは、性染色体化によって Y 染色体だけでなく X 染色体も退化することを示唆する。

次に、偽遺伝子化の要因を調べた。その結果、非同義置換率 (d_N) / 同義置換率 (d_S) 比が高い (すなわち機能的制約の弱い) 遺伝子が Neo-X において偽遺伝子化しやすい傾向にあることが分かった。したがって、Neo-X には自然選択が作用しにくい可能性がある。さらに、Neo-X において偽遺伝子化している遺伝子は、その相同遺伝子が常染色体上に存在する近縁種 *D. pseudoobscura* において、オスに



鬼塚可奈子 (左: 実験補助) 野澤昌文 (中央: 著者) 岩本智慧 (右: 実験補助)

偏った発現を示す傾向にあることが分かった (図 1)。このことは、Neo-X ではオスに比べてメスで相対的に発現量が少ない遺伝子 (おそらくメスにおいて不要な遺伝子) が偽遺伝子化する傾向が強いことを示唆している。つまり、染色体のメス化 (脱オス化) によって Neo-X における偽遺伝子化の速度が上昇していると考えられる。

今後は、性的拮抗遺伝子 (特にメスに不利でオスに有利な遺伝子) が Neo-X において偽遺伝子化しやすい傾向があるかどうかを検証したい。また、ショウジョウバエには他にも Neo 性染色体を持つ種が存在する (図 2) ので、これらの種を解析することで、X 染色体の退化がショウジョウバエに共通する現象であるかどうかについても調べていく予定である。

※本研究で着目したのは「メス化」と「Neo-X 染色体の退化」の関連性についてであり、「オス化による退化」についてはまだ検証中です。誤解を生むような演題にしたことを深く謝罪いたします。

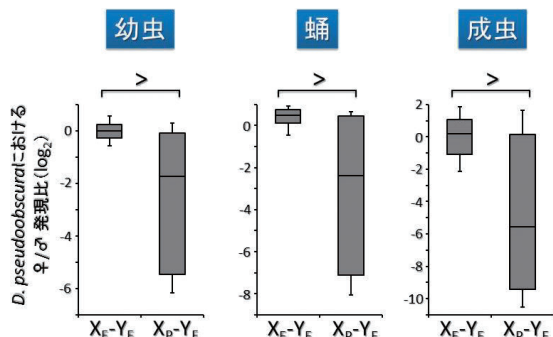


図 1. *D. pseudoobscura* におけるメス : オス遺伝子発現量比

X_F-Y_F は *D. miranda* における相同遺伝子が Neo-X と Neo-Y の両方で機能遺伝子であるようなグループ、X_P-Y_F は Neo-X では偽遺伝子で Neo-Y では機能遺伝子であるようなグループを指す。>は有意水準 0.1% で X_F-Y_F グループの遺伝子のほうが X_P-Y_F グループ遺伝子よりもメス : オス遺伝子発現量比が高いことを意味する。左図 : 3 齢幼虫 (壁を這っていないもの)、中央図 : 蛹 (蛹化後 48~60 時間)、右図 : 成虫 (羽化後 72~96 時間)。

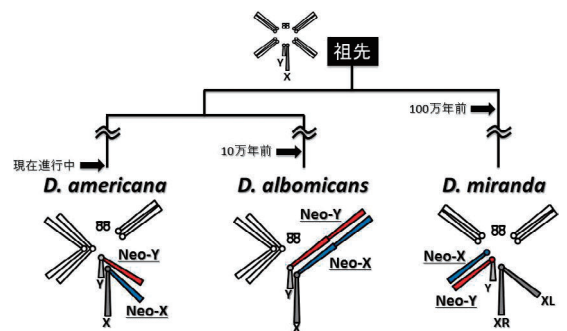


図 2. Neo 性染色体を持つショウジョウバエ

ショウジョウバエでは性染色体と常染色体の融合により新たな性染色体 (Neo 性染色体) が独立に生じている。*D. miranda* では約 100 万年前、*D. albomicans* では約 10 万年前に Neo 性染色体が誕生した。一方、*D. americana* ではいまだ Neo 性染色体を持つ個体と持たない個体が混在している。



マウス変異蓄積システムを利用した生殖系列の突然変異率の推定とその特徴

内村 有邦 大阪大学 生命機能研究科
うちむら ありくに

生殖系列を通じて、ゲノム DNA に生じる変異は、個体ごとの遺伝的多様性につながり、世代を超えて多くの変異が積み重ねられることで、生物は進化を遂げる。私たちは、生殖系列の変異が、どのように発生して、それらが後世代にどのように伝わり、形質にどのように影響を及ぼしていくか、理解することを目標に研究に取り組んでいる。

これまで、通常のマウス (C57BL/6J 系統) と変異率を高めたマウス (Mutator マウス: DNA ポリメラーゼ δ の校正活性欠失マウス¹⁾) を兄妹交配で25世代以上 (9年間) 継代し、2種類の変異蓄積システムを樹立してきた。これらの変異蓄積システムについて全ゲノムシーケンシングを行い、これまで不明だった、実験用マウス (野生型) の変異率の推定に世界で初めて成功した²⁾。その結果、マウスの世代あたりの変異率 (塩基置換型) は、ヒトの約半分に相当する 5.4×10^{-9} /塩基であり (表1)、従来までのマウスの変異率の推測値 (3.7×10^{-8})³⁾ より大幅に低いことが明らかになった。マウスとヒトでは、発生する変異の特徴が似ている (CpG 配列で変異率が高い、トランスポージョン型変異が多いなど) ことなども明らかになった。一方、Mutator マウスでは、変異率が野生型の約17倍に上昇しており (9.4×10^{-8} /塩基)、毎世代、全ゲノム中で約500箇所 of de novo 変異 (2倍体あたり) が発生することが分かった。

長期に及ぶ、Mutator マウスの継代過程では、蓄積された多くの変異 (図1) の影響により、「小鳥のように鳴くマウス」、「四肢や尾が短いマウス」などの表現型異常を示す個体が野生型マウスの約4倍の頻度で観察され、世代経過とともに、繁殖能力や産仔の生存力が著しく (継代当初に比べて60%以上) 低下し、系統ごとに量的形質が多様化することなどが明らかになった²⁾。ヒトの平均の約8倍の変異率をもつ Mutator マウスで、大きな形質変化が観察されたことから、ヒト集団で発生する de novo 変異も我々やその子孫の形質に大きな影響を及ぼすと考えられる。

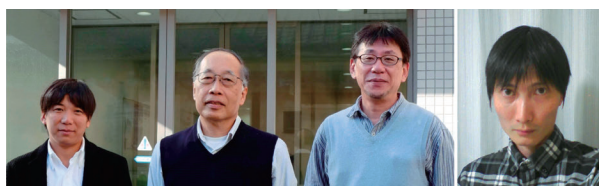
現在、「性染色体上で発生する変異」や「生殖細胞中での de novo 変異の発生時期」について解析を進めているが、予想外の結果が次々と得られている。新型シーケンサーの登場により、突然変異の研究は新しい時代に入ったと考えられる。

表1. 生殖系列の変異率と世代あたりの変異の発生日数

	変異率 ($\times 10^{-8}$ /塩基)	変異発生日数 ($\times 2$ 倍体ゲノム)	参考文献
ヒト	1.2	68	Kong et al (2012)
チンパンジー	1.2	~68	Venn et al (2014)
野生型マウス	0.54	28	This study
Mutator マウス	9.4	489	This study
マウス (ENU 処理)	80	2,105	Gondo et al (2009)
ショウジョウバエ	0.28	0.94	Keightley et al (2014)
線虫	0.27	0.54	Denver et al (2009)

引用文献)

- 1) Uchimura A. et al. *PLoS One*, 4: e4184, 2009
- 2) Uchimura A. et al. *Genome Res*, 25: 1125-1134, 2015
- 3) Lynch M. *Trend Genet*, 26: 345-352, 2010



水口洋平 藤山秋佐夫 豊田 敦 西野 稔



八木 健 内村有邦 樋口真弓 新見恵理

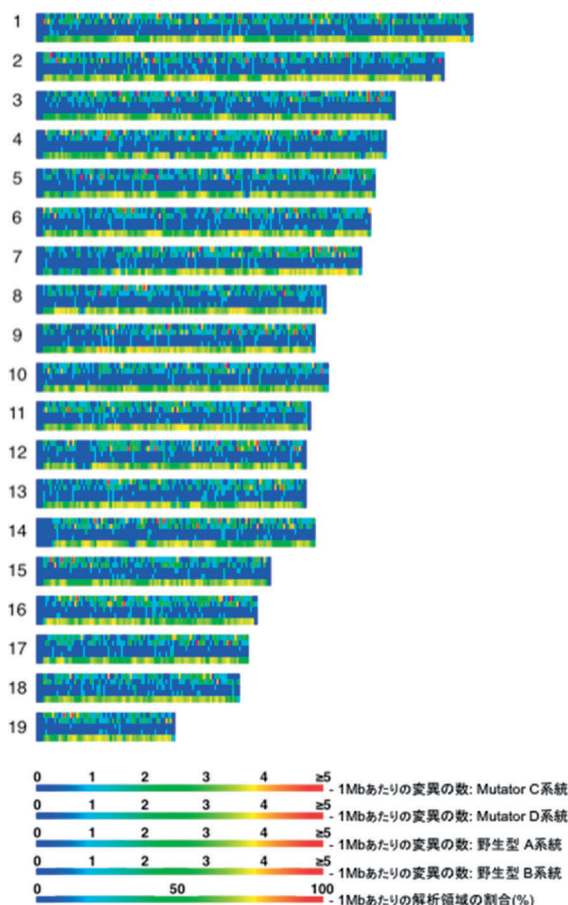


図1. 変異蓄積システムに蓄積された de novo 変異の染色体上での分布。それぞれの染色体について、上の2行が Mutator マウスの2系統、その下の2行が野生型マウスの2系統に、それぞれ蓄積された変異の分布頻度を示している。一番下の行には、今回の解析で対象としたゲノム領域の割合が表示されている。



大腸菌 *oriC* での複製開始に必要な DNA 開裂複合体の中核構造の解明

崎山友香里
さきやま ゆかり

九州大学大学院 薬学府
分子生物薬学分野

全ての細胞性生物において、染色体 DNA の複製は細胞増殖に必須の反応である。染色体 DNA の複製を開始するために、まず複製起点と呼ばれる二重鎖 DNA 領域が局所的に開裂して一本鎖化する。続いて、生じた一本鎖 DNA 上に、DNA 複製装置が装着されることにより、DNA 合成反応が進行する。

大腸菌では、唯一の複製起点 *oriC* に DnaA 蛋白質が結合することにより、二重鎖 DNA の開裂が引き起こされる。*oriC* は AT-rich な二重鎖開裂領域と 12 ヶ所の DnaA 結合配列 (DnaA box) のクラスター領域とで構成される (図 1)。このクラスターの両端には、DnaA との結合親和性の高い DnaA box R1 と R4 が対称に配位し、これらの間に 9 ヶ所の低親和性 DnaA box と 1 ヶ所の中間的な親和性をもつ R2 とが並んでいる。また、このクラスター領域は DNA 屈曲因子である IHF の結合配列を 1 つ含む (図 1)。DnaA は、4 つの機能ドメインを持ち、この内ドメイン III は ATP、ADP と結合する。ATP 結合型 DnaA は隣接する DnaA 分子のドメイン III の R285 残基と相互作用することにより、特異的な複合体を形成する。また、このドメインは 2 つの一本鎖結合残基 (V211, R245) を含み、開裂によって生じた一本鎖 DNA のうち、T-rich 鎖と特異的に結合する¹⁾。複製開始時において、ATP 結合型 DnaA は *oriC* 内の DnaA box の配向に依存して左右で異なる機能をもつ DnaA サブ複合体を形成する^{2,3)}。当研究室は、左側のサブ複合体が IHF による DNA の屈曲と協調して二重鎖 DNA を開裂することを見出している⁴⁾。しかしながら、この DNA 開裂複合体中のどの DnaA 分子の機能が、DNA 開裂に重要であるか、また T-rich 鎖と結合した DNA 開裂複合体構造は明らかでない。

我々は、*in vitro* 再構成系を利用した解析により、2 つの DnaA box が DNA 開裂に必須であることを明らかにした。また、最近確立した DnaA プロトマー特異的な変異体導入法³⁾ により、これらの DnaA box 上の DnaA 分子は、DNA 開裂複合体形成のコアとして働くこと、また開裂によって生じた T-rich 鎖との結合にも機能することを見出した。さらに、これら *in vitro* で得られた結果が大腸菌細胞内でも当てはまることを、変異体解析によって確認した。以上の結果は、*oriC* 上の DnaA 分子が直接、開裂によって生じた一本鎖と結合した DNA 開裂複合体構造をとるといふ、当研究室の提唱するモデルとよく一致する (図 2)。今後は、このような DNA 開裂複合体による DNA 複製装置の装着機構を解明したい。



(左から) 片山 勉、崎山友香里、野口泰徳、川上広宣

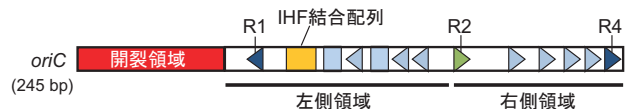


図 1. *oriC* の配列構造

二重鎖開裂領域を赤い四角形で示した。高親和性の DnaA box を青色、低親和性の DnaA box を水色、中間の親和性の DnaA box を黄緑色で示した。三角形の向きは DnaA box の配向に対応する。また、四角形で示した DnaA box は配向性が決定されていない。IHF 結合配列を黄色の四角形で示した。



図 2. DNA 開裂複合体モデル

DNA 開裂に重要な左側 DnaA サブ複合体のみを図示した。また、DnaA の機能ドメインのうち、I と II は DNA 開裂に不要であるため、省略した。開裂によって生じた一本鎖 DNA の T-rich 鎖は、左側領域上で複合体を形成する DnaA 分子に V211, R245 残基を介して結合すると考えられる。

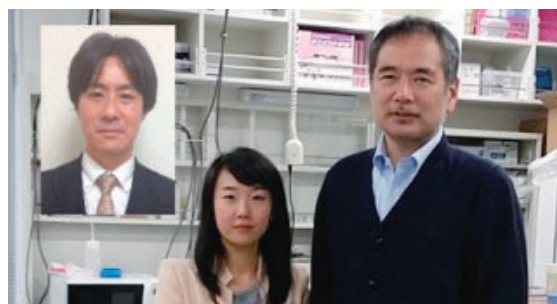
References:

- 1) Ozaki *et al.*, (2008) *J. Biol. Chem.* 283: 8351–8362
- 2) Ozaki *et al.*, (2012) *J. Biol. Chem.* 287: 37458–37471
- 3) Noguchi *et al.*, (2015) *J. Biol. Chem.* 290: 20295–20312
- 4) Ozaki and Katayama (2012) *Nucleic Acids Res.* 40: 1648–1665



Molecular analysis of site-specific recombination mediated by XerA from *Thermoplasma acidophilum*

Minji Jo Department of Life Science, Graduate School of Bioscience and Biotechnology, Tokyo Institute of Technology



From the left, Yasuhiro Tsutsui, Minji Jo & Hiroshi Iwasaki

Xer-mediated site-specific recombination plays a critical role in the segregation of circular chromosomes after DNA replication. Two tyrosine-recombinases, XerC and XerD, form a complex that resolves chromosome dimers in *Escherichia coli*. XerC-XerD recombinases act at a specific DNA sequence, called *dif*, with the aid of the ATP-dependent DNA translocase FtsK (Figure 1)¹.

In contrast, only a single *orf* (referred to as *TacXerA*) with sequence similarity to common Xer recombinases has been found in the genome of the archaeon *Thermoplasma acidophilum*. No apparent FtsK homologue exists in this organism. Here, we provide evidence that *TacXerA* is a site-specific recombinase that can resolve chromosome dimers in *T. acidophilum*.

ChIP-Seq analysis with anti-*TacXerA* antibody identified two potential *TacXerA* binding sites (named as Peak1 and Peak2) on the chromosome; this finding was confirmed by real-time qPCR. The two peaks corresponded to two sequences, *dif1* (27bp) and *dif2* (28bp), as determined by sequence alignment of recombination sites in other archaeal species. Notably, the *dif2* site is in a potential termination region located halfway from the origin of replication. *In vitro* experiments revealed that dimer plasmids with *dif* 2 sites were resolved by purified *TacXerA* into two monomer plasmids. Furthermore, consistent with dimer resolution, reactions with engineered plasmids containing two *dif2* sites per chromosome generated recombination products, but not plasmids with two *dif1* sequences.

Sequence residues essential for recombinase activity were identified by an *in vitro* inter-molecule recombination assay with plasmids containing various mutations in the *dif* 2 sequence. These studies strongly suggest that *TacXerA* is indeed a functional Xer recombinase involved in resolution of dimer chromosomes at the *dif2* site. In addition, half-site strand transfer assays with the *dif2* sequence provided further insights into how *TacXerA* recognizes the cleavage site in the target sequence and mediates site-specific recombination. I am now trying to elucidate physiological function, if any, of the *dif1* sequence *in vivo*.

References

- 1) Barre FX. *et al* (2001) *Proc Natl Acad Sci U S A* **98**, 8189–8195.

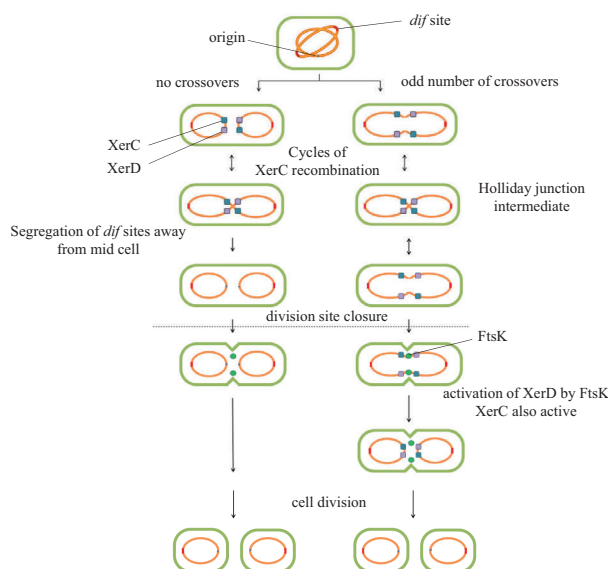


Figure 1. Dimer formation and its resolution during chromosome segregation in *E. coli*

While the replicated origins (red rectangles) migrate toward to the poles of the cell, the *dif* sites (blue rectangles) stays at the midcell. The replicated two *dif* sites are synapsed by the XerC-XerD recombinases forming a Holliday junction intermediate. The formed Holliday junction intermediate is resolved by XerC. If the replicated chromosome is resolved into two monomers, segregation will eventually break the synaptic complex and the *dif* sites move away from the midcell before cell division. In contrast, the replicated chromosome will form a circular dimer by odd number of crossover of homologous recombination. In such a case, the synaptic complex will be trapped at midcell and FtsK will access to the synaptic complex. FtsK activates XerD and changes the Holliday junction conformation, thus the chromosome dimer is resolved into two monomers for cell division¹.



分裂酵母における複製 DNA ポリメラーゼの機能分担のゲノム科学的解析

大学 保一 東北大学 学際科学フロンティア研究
だいがく やすかず 所

真核生物の細胞には10種類以上の DNA ポリメラーゼが存在し、それらが分業を行うことで、ゲノム情報の担体である DNA は細胞周期の限られた時間内に効率的、かつ、正確に複製される。複製の進行方向に起きる連続的な合成は Pol ϵ (イプシロン)、反対方向に起きる非連続的な合成、すなわち、岡崎フラグメントの合成は Pol δ (デルタ) が主に担い、ゲノム DNA の大半の領域はそれら二種の「複製ポリメラーゼ」により複製されると考えられている。我々は分裂酵母を用いて、全ゲノム領域にわたり Pol δ と Pol ϵ の分業を明らかにするため、これらのポリメラーゼの合成領域を特定する解析方法を確立した (Polymerase Usage Sequencing: Pu-seq)。

DNA ポリメラーゼはデオキシリボヌクレオチド (dNTP) を新生鎖末端に付加する反応を繰り返すことにより、DNA 鎖の伸長を行うが、細胞には dNTP より格段に多くのリボヌクレオチド (rNTP) が存在し、rNTP が新生鎖に取り込まれることがある。我々は dNTP を取り込むポケットの構造が変化し、rNTP を高頻度に取り込む Pol δ と Pol ϵ ポリメラーゼ変異株を作成し、変異を導入したポリメラーゼの合成領域を rNTP が取り込まれた部位として検出する実験系を開発した (図1)。

アルカリ処理により、ゲノム DNA 中の rNTP 部位は切断されるので、DNA の断片化の程度により rNTP の取り込みを評価することができる。その DNA 断片より次世代シーケンサーを用いて配列解析を行なった。その結果、各領域にアラインされる DNA 断片数から Pol δ 、Pol ϵ 変異株における rNTP 取り込み量を算出し、Pol δ 、Pol ϵ それぞれが使用される割合を全ゲノムの領域にわたって明らかにすることに成功した (図2)。

これらの結果から、現在までのモデルの通り、Pol ϵ による連続的な合成と Pol δ による非連続的な合成が全ゲノム領域でほぼ共通して起きることが示された。しかし、低頻度ではあるが、複製開始点の近傍では Pol δ が Pol ϵ の代わ



左から、大学保一、Antony Carr、Andrea Keszthely、宮部 泉

りを果たすこと、複製の終末点となりうる領域においては Pol ϵ により両方の鎖が合成されることが示された。この結果により複製ポリメラーゼの分業はフレキシブルな要素を含むことが明らかにされた。

本研究では、複製ポリメラーゼ Pol δ 、Pol ϵ の2つポリメラーゼを対象として研究を行ったが最近の研究においては、これらの以外のポリメラーゼもゲノム複製に関与することが示されており、今後はより多くの DNA ポリメラーゼを対象として研究を進め、DNA ポリメラーゼ間の協調的な機能の全容の解明を目指す。

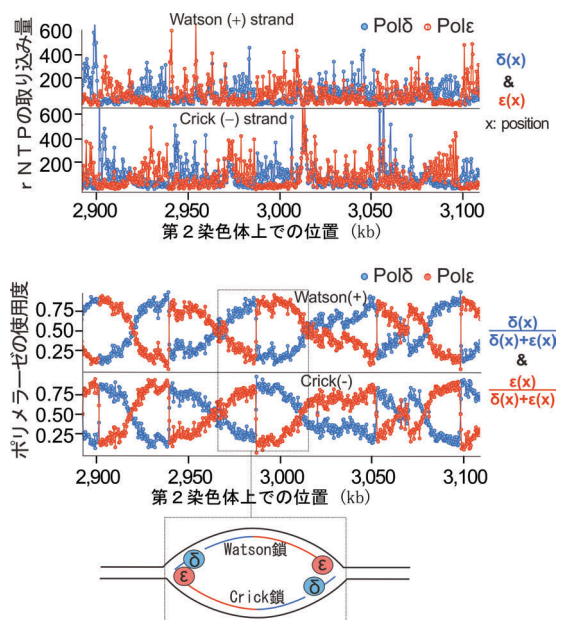


図2 Pol δ と Pol ϵ による rNTP の取り込み量 (上)、および、算出された Pol δ と Pol ϵ の使用度 (中)。Pol ϵ 、Pol δ による合成が各複製起点の両側に対照的に観察される (下)。

参考文献

Daigaku *et al.* Nat. Struct. Mol. Biol. 22, 192–8, 2015
Miyabe *et al.* PLoS Genet. e1002407, 2011

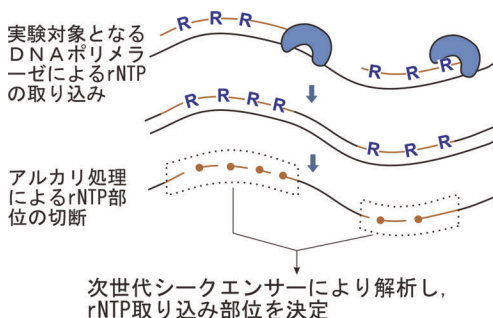


図1 Pu-seq 実験における rNTP 取り込み部位を特定する方法の概略。



タンパク 3 次構造を考慮した、がんのドライバー遺伝子の検出

藤本 明洋 理化学研究所 統合生命医科学研究センター
ふじもと あきひろ

がんは、ゲノムの変異が原因となって起こる疾患であると考えられており、変異の解析はがん研究において最も重要な課題の一つである。近年のシーケンシング技術の発展により、全ゲノム、全エクソーム配列決定が可能となり、盛んに研究されている。

がんの発生・進展において直接的に重要な役割を果たす遺伝子は、ドライバー遺伝子と呼ばれ、ドライバー遺伝子を検出することにより、発がんのメカニズムの解明や治療標的の発見に結びつく成果が得られると期待されている。一般に、ドライバー遺伝子は、変異数を統計的に検定することにより検出される。しかしながら、変異数に基づく解析では、低頻度のドライバー遺伝子の検出は困難であり、新たな解析法が必要となる。変異数の解析に加えて、変異の集積に着目した解析も行われている。例えば、癌遺伝子(変異により機能が亢進することにより癌を引き起こす遺伝子)では、機能を亢進する変異が存在しう部位に限られているため、特定のコードンに変異が集積する傾向がある。(例えば、EGFR 遺伝子ではコードン858や719に変異が集積することが知られている。EGFR 遺伝子のこれらの変異は分子標的として有効である。)タンパクの1次構造(アミノ酸配列)上の変異の集積の解析は、頻繁に行われ、ドライバー遺伝子候補の検出や変異のホットスポットが報告されている。

我々は、タンパク質の立体構造を考慮することにより、1次構造の解析では見逃されている変異の集積を検出できるのではないかと考えた。そこで、立体構造を考慮して変異の集積を検定する方法(3D permutation 法)を開発した。この方法では、立体構造が決定されている遺伝子について、立体構造内の変異間の距離を求め、変異の位置がランダムであった場合との違いを並べ替え検定でテストする。この手法をTCGA計画(The Cancer Genome Atlas 計画)で公開された20種のがんのデータに適用した。その結果、98遺伝子に有意な変異クラスターが検出され、ドライバー遺伝子候補と考えられた。23遺伝子が複数の癌種で有意な結果を示した。また、約半数の遺伝子が既知のドライバー遺伝子(TP53, PIK3CA, PTEN, CDKN2A など)であり、本方法は正しくドライバー遺伝子を検出していると考えられた。

また、本手法で検出された新規候補には、細胞増殖に関わる遺伝子やリン酸化酵素が有意に多く、創薬のターゲットとして有効な遺伝子を多数含むと考えられた。今後は、この方法を相互作用するタンパクや特定のドメインなどに拡張するとともに、実験的検証を行いたいと考えている。

図2: TCGA 計画により公開された変異の解析の結果、複数の癌種で変異の位置が有意に偏っていた遺伝子の一覧。アノテーションは、Vogelstein らの総説に基づいた(Vogelstein et al. (2013) Science)。TSG は癌抑制遺伝子、Oncogene は癌遺伝子を示す。癌種名の略称は TCGA 計画に従った。

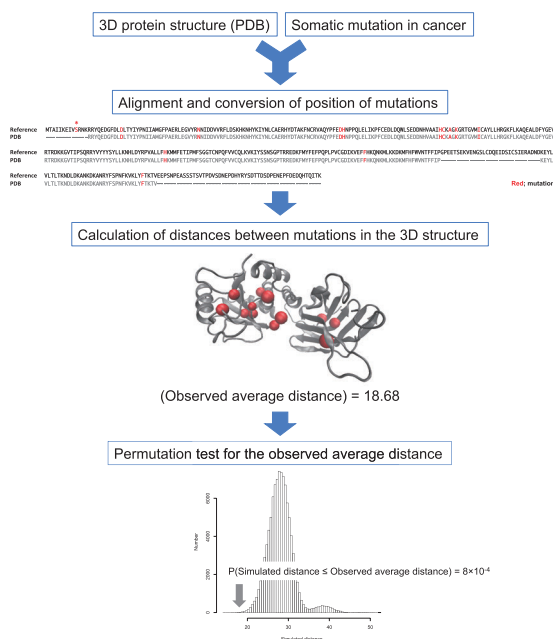


図1: 方法の概要 タンパクの3次構造をPDB (Protein Data Bank) よりダウンロードした。がん検出された変異間の距離を立体構造上で求め、並べ替え検定を行うことで有意性の検定を行った。乳がんにおけるPTEN 遺伝子の例を示す。変異は赤字で示した。また、全長の立体構造は得られず解析不能であった変異は*で示した。

Gene	Number of cancer	Annotation	ACC	BLCA	BRCA	CESC	COADREAD	GBM	HNSC	KICH	KIRC	KIRP	LHC	LUAD	LUSC	OV	PRAD	SKCM	STAD	UCEC	UCS
TP53	16	TSG																			
PIK3CA	8	Oncogene																			
PTEN	5	TSG																			
CDKN2A	4	TSG																			
SPOP	3	Oncogene																			
CTNNB1	3	Oncogene																			
NFE2L2	3	Oncogene																			
LIT	2																				
PARG	2																				
BRAF	2	Oncogene																			
FGG	2																				
PIK3R1	2	TSG																			
RAC1	2																				
KMT2C	2																				
PPP2R1A	2	Oncogene																			
SMAD4	2	TSG																			
TIN	2																				
EGFR	2	Oncogene																			
KEAP1	2																				
MST1	2																				
DXH9	2																				
ERBB3	2																				
ERBB2	2	Oncogene																			

q-value < 0.00001 < 0.001 < 0.01 < 0.1 N.S.



ヒストン脱アセチル化酵素によって制御される植物の新規乾燥耐性機構

金 鍾明
きむ じゅんみょう

理化学研究所 環境資源科学研究センター
植物ゲノム発現研究チーム

生命を維持する上で、「水の欠乏」は最も大きな負のインパクトです。急激な気候変動の影響により、地球のいたるところで乾燥や干ばつが起こり、生物にとっては生存に関わる大きな脅威となっています。動物のように水場を求めて移動することのできない植物の場合では、それぞれの個体は芽を出した場所から動くことはできず、その場の生存環境に应答・耐えて生き延びていくしかありません。そのため、植物は独特の巧妙な乾燥耐性機構を有しており、これを駆使して生き残り、適応・進化してきたと考えられます。

私たちは、エピジェネティックな情報の一つであるヒストン修飾を介した制御が、植物の乾燥ストレスに应答した遺伝子発現に機能していることを明らかにしてきました。また同時に、トランスポゾンの抑制や開花時期の調節など、植物の生命現象に多面的に機能することが知られているシロイヌナズナのヒストン脱アセチル化酵素 Histone Deacetylase 6 (HDA6) に着目した研究を進めています。これまでの研究から、HDA6 遺伝子の変異植物株が、乾燥に対して非常に強い耐性を示すことを発見しただけでなく、HDA6 タンパク質が乾燥ストレスに特異的に应答して、解糖系から酢酸合成系へと中心代謝系の流路を直接変換するためのスイッチ分子として機能することを明らかにしました。またさらに、単子葉および双子葉を問わず、植物へ酢酸を投与することにより乾燥耐性を付与できることを確認しています。これらのことは、「エピジェネティックな因子が植物の環境ストレス応答機構を直接制御する」だけでなく、「酢酸合成経路の活性化」とその産物である「酢酸」が植物の乾燥耐性獲得に必須の因子であることを示す初めての報告です。さらに、酢酸合成に働く遺伝子に対するホモロジー解析の結果から、解糖系からの酢酸合成を利用した新規乾燥耐性機構は、菌類、コケ類と植物界に広くに保存されていることが示唆されました。

今後は、環境ストレス応答に機能するエピジェネティッ



図1. *hda6* 変異株は顕著な乾燥ストレス耐性を示す



藤 泰子

金 鍾明

関 原明

クートランスク립トミミックネットワークの解明をさらにすすめるとともに、HDA6 が関与するゲノム安定性に関わる制御機構の解明を通して、真核生物のゲノムと代謝の適応・進化、それらに関わるヒストン修飾の役割について明らかにしていきたいと考えます。

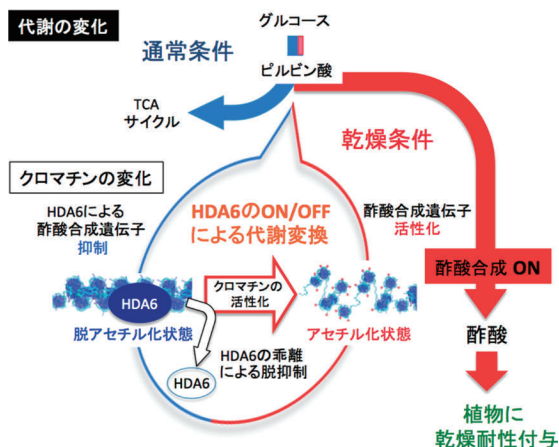


図2. 乾燥刺激に应答した HDA6 の結合-乖離が乾燥耐性に必須の酢酸合成を制御する

通常条件下では HDA6 の結合により抑制状態にある酢酸合成遺伝子が、乾燥ストレス刺激により HDA6 が乖離することで、ヒストンアセチル化を伴うクロマチンの活性化を生じる。これにより、酢酸合成遺伝子の転写が促進され、解糖系を介した糖代謝経路の流れが、ピルビン酸から酢酸合成経路に変わる。このようにして、HDA6 の乖離に連動して産生された酢酸は、植物に乾燥耐性を付与することができる。

参考文献

- 1) Kim JM, et al. (2012) Plant Cell Physiol. 53: 794-800.
- 2) Kim JM, et al. (2012) Plant Cell Physiol. 53: 847-856.
- 3) To TK, Kim JM, et al. (2011) PLoS Genet. e1002055.



ヒト化ショウジョウバエを用いた脊椎動物の超保存配列の機能解析

大迫 隆史
おおさこ たかし

京都工芸繊維大学
高度技術支援センター

今世紀に入り、多くの生物種の全ゲノム配列が決定していく中で、脊椎動物のゲノムには、非翻訳領域であるにもかかわらず著しく高度に保存されている領域が多数存在していることが明らかになってきました。極端な場合には、ヒト-マウス-ラット間で200塩基対以上にわたって完全に一致する配列が数百カ所も見つかり、それらは超保存配列 (Ultraconserved elements) と呼ばれています。これらの配列が、なぜ存在しているのかは明らかになっていませんが、その一部が遺伝子発現のエンハンサーとして働くことがマウスを用いて示されています。私たちが進めているヒト化ショウジョウバエプロジェクトは、脊椎動物間で高度に保存されている1,740種類のヒト由来配列の全てをショウジョウバエに導入し、その機能を解明することを目的としています。

今回の講演では、GAL4-UAS システムを用いたアッセイ系で、それらの配列が遺伝子発現のエンハンサーとして働くかどうか調査した結果を報告しました。調査した44の配列の全てで、導入したヒト配列に依存した遺伝子発現が、胚期または3齢幼虫期の1つ以上の組織で観察されました (図1、図2)。ヒト由来の配列がショウジョウバエという異種の遺伝的背景でエンハンサー活性を示すことを明らかにしたと同時に、私たちのアッセイ系がエンハンサー活性を調査する上で非常に効果的であることが示されました。さらに、3齢幼虫においては、ほぼ全ての配列が脳を含む中枢神経系組織での発現を誘導した (図1、図3) ことから、脊椎動物間で高度に保存された配列と脳の遺伝子発現調節との密接な関連が示唆されました。

現在までに400種類以上のヒト由来配列を持ったショウジョウバエ系統の確立が完了しています。全種類の系統の確立を目指しながら、順次、エンハンサー活性の解析を継続して行っています。確立した系統は今後、KYOTO Stock Center (DGRC) から公開し、広く研究者に利用していただ



大迫隆史 松田 健 都丸雅敏 高野敏行

く予定です。ショウジョウバエは、マウスなどの他の高等モデル生物と比較して、大規模な解析を低コストで高速に行うことができます。ショウジョウバエを用いて、脊椎動物のゲノム進化の謎に迫る研究成果を上げたいと考えています。

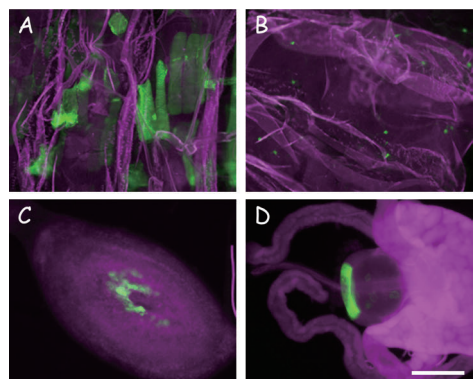


図2 3齢幼虫期の各組織における発現の例

遺伝子発現の誘導は GFP レポーター遺伝子を通して確認した。自家蛍光 (赤紫) と GFP (緑) を重ね合わせた写真。A) 筋肉、B) 末梢神経、C) 脚原基、D) 腸管。バーは0.1mm。

CNS																Imaginal discs																																							
Clone	length	V		W		H		L		A		R		S		N		M		O		G		Clone	length	V		W		H		L		A		R		S		N		M		O		G									
		C	B	C	M	C	N	C	B	C	M	C	N	C	B	C	M	C	N	C	B	C	M			C	B	C	M	C	N	C	B	C	M	C	N	C	B	C	M	C	N	C	B	C	M	C	N						
1.4	640	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	345.1	706	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
26.8	1099	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	345.2	706	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
28.4	716	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	401.4	848	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
46.2	621	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	417.2	527	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
53.1	463	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	429.4	532	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
57.1	612	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	437.5	644	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
57.2	612	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	439.5	655	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
71.2	859	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	474.1	722	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
218.2	673	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	+	479.1	608	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
248.1	721	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	487.1	515	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
249.1	485	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	500.1	555	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
27.2	721	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	508.1	514	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
269.2	615	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	546.1	950	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
281.4	454	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	723.1	678	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
294.3	633	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	730.2	666	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
305.3	607	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1240.5	641	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
305.1	917	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1286.1	693	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
306.3	322	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1871.1	379	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
323.2	721	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1871.2	379	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
330.5	682	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1873.2	533	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
331.2	526	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1874.6	729	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
354.1	710	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	2311.7	498	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
357.1	701	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	2312.1	587	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
381.1	890	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	2312.2	587	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

26.8 超保存配列

57.1 同一配列

強い発現あり

弱い発現あり

発現なし

未確認

CB: Central brain

MD: Mushroom body

CA: Calyx

OL: Optic lobe

VNC: Ventral nerve cord

WD: Wing disc

HD: Haltere disc

LD: Leg disc

EAD: Eye-antennal disc

RG: Ring gland

SG: Salivary gland

PNS: Peripheral nervous system

MS: Muscle

OV: Ovary

GT: Gut

RG: Ring gland

SG: Salivary gland

図1 3齢幼虫期の各組織において誘導される遺伝子発現

大部分の系統で脳を含む中枢神経系組織 (CNS) で遺伝子発現が誘導される。

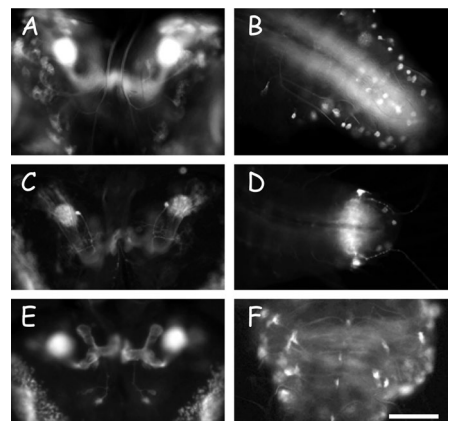


図3 3齢幼虫期の中枢神経系組織における発現の例

遺伝子発現の誘導は GFP レポーター遺伝子を通して確認した。GFP のみの写真。A)・C)・E) 脳、B)・D)・F) 腹部神経節。バーは0.1mm。



トゲウオ科魚類近縁種間の雑種不稔とクロマチン結合タンパク質の機能的分化

吉田 恒太
よしだ こうた

国立遺伝学研究所 生態遺伝学研究部門

種分化は一般的に複数の生殖的隔離の蓄積により生じるが、その中でも雑種不稔の進化は最終的に種分化を決定させる重要な原因因子である。しかしながら、その原因遺伝子の研究はマウスやショウジョウバエなどの実験動物に限られ、実際の種分化における雑種不稔の進化を調べるためには、最近に種分化した野生生物を調べる必要性があった。そこでわれわれは日本近海に生息する二種のトゲウオ科魚類、太平洋型イトヨ *Gasterosteus aculeatus* と日本海型イトヨ *Gasterosteus nipponicus* に着目した(図1)。この二種は約二百万年前にわかれたと考えられており、現在は同所的生息地も存在するが、生殖的に隔離されている。この二種の間では日本海型イトヨの雌と太平洋型イトヨの雄を掛け合わせた際に、雄特異的に雑種不稔が観察される(図2)。先行研究では、量的遺伝子座(QTL)解析によりこの雑種不稔の QTL 領域は X 染色体である連鎖群19番に存在する事がわかっていた¹⁾。しかしながら、この QTL 領域には515個の遺伝子が含まれており、実験動物ではない生物種でどのように遺伝子を同定するのか大きな課題となっていた。

ショウジョウバエやマウスなどで報告されている雑種不稔の原因遺伝子は共通して1. クロマチンに結合し、2. 進化速度がはやいという二つの特徴が見られる。これらは動原体ドライブ説という理論的説明にも合致している²⁾。本研究ではこのような特徴を満たす遺伝子に着目し、トランスクリプトーム解析及びゲノム解析により、精巣で発現し、進化速度の速い、クロマチン結合ドメインをもつ遺伝子をスクリーニングした。その結果、一つの遺伝子が候補として見つかった。



図1. 太平洋型イトヨ(上)と日本型イトヨ(下)

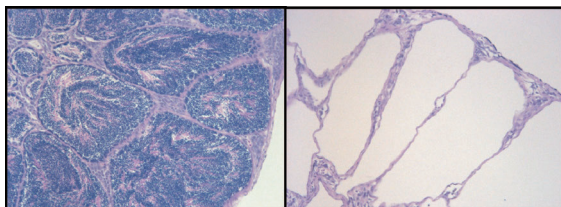
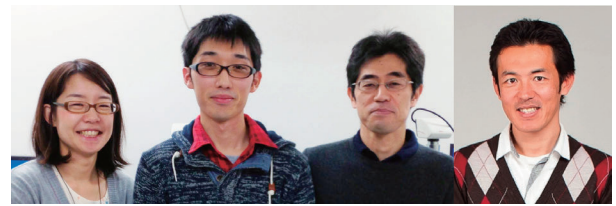


図2. 日本海型純系の精巣(左)と雑種の精巣(右)



石川麻乃

吉田恒太

北野 潤

牧野能士

われわれは、この候補遺伝子について、図3に示すように、*in vitro* 解析や *in vivo* 解析を用いて、遺伝子の種間の機能的違いとその雑種不稔との関係性を解析している。ヒストンペプチドアレイを用いた *in vitro* 解析ではこの候補遺伝子のタンパクが太平洋型イトヨではヘテロクロマチン特異的ヒストン修飾に結合するのに対し、日本海型イトヨでは結合が全く異なることが示された。遺伝子導入したゼブラフィッシュ細胞を用いたタンパクの細胞内局在の解析では、この候補遺伝子の特徴的な核内局在が示されたが、二種でその局在パターンが大きく異なることがわかった。また、発現解析では二種間で精巣での遺伝子の発現量も異なり、雑種は太平洋型と同様に発現量が低い事がわかった。この遺伝子は X 染色体に連鎖するため、不稔を起こす雑種雄は日本海型イトヨのアレルしかもっていない。それにもかかわらず、発現量が太平洋型と同様に低下していたため、アミノ酸配列の機能と発現量の間の不都合が雑種では生じている可能性が考えられる。

現在、このような遺伝子の機能異常が雑種不稔に実際に結びついているのかを検証するために、CRISPR/Cas9 システムを用いた遺伝子破壊を行っており、今後その精巣への影響を調べていく予定である。

1. *in vitro* 機能解析

結果: 種間のヒストン結合性の違い

2. 細胞内機能解析

結果: 種間の核内局在の違い

3. 発現解析

結果: 種間の発現量の違い

4. ゲノム編集解析

展望: 精巣への機能の検証

図3. 候補遺伝子の解析とその結果

1) Kitano et al., Nature (2009) 461 (7267): 1079

2) Henikoff and Malik, Nature (2002) 417 (6886): 227

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長の承認を経て、正式なものとする。

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。紛失した場合などは、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と協議して決める。
- 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90巻5号 (付録)
2016年2月15日発行 非売品
発行者 遠藤 隆
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://gsj3.jp/>
(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。