



# 若手研究者が語る 遺伝学の パラダイムシフトを目指して (Ⅲ)

## 日本遺伝学会第94回大会 Best Papers 賞



### DDR 複合体による熱活性型レトロトランスポゾンの制御機構

○牛 小蛭<sup>1</sup>、陳 露<sup>1</sup>、加藤敦之<sup>2</sup>、伊藤秀臣<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>北海道大学 生命科学院 生命システム科学専攻、<sup>2</sup>北海道大学大学院 理学研究院 生物科学)



### Origin and evolution of nitrogen fixation in prokaryotes

○Hong-Wei Pi<sup>1,2</sup>、Wen-Hsiung Li<sup>2,3</sup>

(<sup>1</sup>Ph. D. Program in Microbial Genomics, National Chung Hsing University and Academia Sinica, <sup>2</sup>Biodiversity Research Center, Academia Sinica, <sup>3</sup>Department of Ecology and Evolution, University of Chicago)



### 細胞の生存は量子効果に支配されている

○安田武嗣<sup>1</sup>、中島菜花子<sup>2</sup>、荻 朋男<sup>3</sup>、谷中智子<sup>1</sup>、後藤孝也<sup>4</sup>、田嶋克史<sup>5</sup>

(<sup>1</sup>量子科学技術研究開発機構 量子生命・医学部門 量子生命科学研究所、<sup>2</sup>量子科学技術研究開発機構 量子生命・医学部門 量子医科学研究所、<sup>3</sup>名古屋大学 環境医学研究所、<sup>4</sup>大東文化大学 健康科学、<sup>5</sup>山形県立中央病院 血液内科)



### 遺伝子様エピゲノムを獲得したトランスポゾンの発現調節機構

○越阪部晃永<sup>1,2,3</sup>、山崎慈恵<sup>1</sup>、Jamge Bhaghyshree<sup>3</sup>、田中祐梨子<sup>1</sup>、小川公美<sup>1</sup>、Lorkovic Zdravko<sup>3</sup>、Berger Frederic<sup>3</sup>、角谷徹仁<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>東京大学大学院 理学系研究科 生物科学専攻 遺伝学研究室、<sup>2</sup>JST さきがけ、<sup>3</sup>Gregor Mendel Institute)



### 細胞内エネルギー環境と DNA 修復経路選択の解析

○辻本 怜<sup>1</sup>、篠原美紀<sup>1,2</sup>

(<sup>1</sup>近畿大学大学院 農学研究科 バイオサイエンス専攻 分子生物学研究室、<sup>2</sup>近畿大学 アグリ技術革新研究所)



### RNA polymerase II Ser7リン酸化は、転写と共役したヌクレオソーム除去と再構築を促進して転写一時停止を安定化する

○梶谷卓也<sup>1</sup>、加藤太陽<sup>2</sup>、沖 昌也<sup>1</sup>、木村 宏<sup>3</sup>、大川恭行<sup>4</sup>、小布施力史<sup>5</sup>、Damien Hermand<sup>6</sup>、John Lis<sup>7</sup>、村上洋太<sup>8</sup>

(<sup>1</sup>福井大学 学術研究院工学系部門、<sup>2</sup>島根大学 医学部、<sup>3</sup>東京工業大学 生命理工学院、<sup>4</sup>九州大学 生体防御医学研究所、<sup>5</sup>大阪大学大学院 理学研究科、<sup>6</sup>ナムール大学 Namur Advanced Research College、<sup>7</sup>コーネル大学 Molecular Biology & Genetics、<sup>8</sup>北海道大学大学院 理学研究院)



### 2 種の DNA メチル化間のクロストークが植物エピゲノムパターン形成を駆動する

○藤 泰子、山崎慈恵、小田頌子、富永さやか、竹内俊平、角谷徹仁

(東京大学大学院 理学系研究科 生物科学専攻)



### ショウジョウバエメスの精子保存器官で発現する GAL4 ドライバー

○稲井琴梨<sup>1</sup>、大迫隆史<sup>2</sup>、都丸雅敏<sup>1,3</sup>、高野敏行<sup>1,3</sup>

(<sup>1</sup>京都工芸繊維大学 工芸学部 応用生物学課程、<sup>2</sup>京都工芸繊維大学 高等技術支援センター、<sup>3</sup>京都工芸繊維大学 ショウジョウバエ遺伝資源センター)



### ゼニゴケの ArfB ホモログ

○牧野愛子、小山 巧、本瀬宏康、阿保達彦

(岡山大学大学院 自然科学研究科 生物科学専攻)



### ヒト非コード領域から翻訳される小さいタンパク質に対する機能性配列の探索

○赤瀬太地<sup>1,2</sup>、橋本陽太<sup>1</sup>、松本篤樹<sup>1</sup>、相澤康則<sup>1,3</sup>

(<sup>1</sup>東京工業大学 生命理工学院 生命理工学コース、<sup>2</sup>理化学研究所 生命医科学研究センター、<sup>3</sup>神奈川県立産業技術総合研究所)



### IEE がトランスポゼースとともに引き起こす DNA 融合の分子機構の解析

○岸野 廉、武藤駿太郎、関根靖彦

(立教大学大学院 理学研究科 生命理学専攻)

# GSJ コミュニケーションズ

Proceedings of the Society

令和4年(2022)12月 日本遺伝学会幹事会 編集

## 目次

BP 賞受賞者へのお祝いの言葉

BP 賞選考委員長 沖 昌也

3

BP 賞受賞講演の紹介

I DDR 複合体による熱活性型レトロトランスポゾンの制御機構

牛 小蛸

4

II Origin and evolution of nitrogen fixation in prokaryotes

Hong-Wei Pi

5

III 細胞の生存は量子効果に支配されている

安田 武嗣

6

IV 遺伝子様エピゲノムを獲得したトランスポゾンの発現調節機構

越阪部晃永

7

V 細胞内エネルギー環境と DNA 修復経路選択の解析

辻本 怜

8

VI RNA polymerase II Ser7リン酸化は、転写と共役した  
ヌクレオソーム除去と再構築を促進して転写一時停止を安定化する

梶谷 卓也

9

VII 2種の DNA メチル化間のクロストークが植物エピゲノムパターン  
形成を駆動する

藤 泰子

10

VIII ショウジョウバエメスの精子保存器官で発現する *GAL4* ドライバー

稲井 琴梨

11

IX ゼニゴケの ArfB ホモログ

牧野 愛子

12

X ヒト非コード領域から翻訳される小さいタンパク質に対する  
機能性配列の探索

赤瀬 太地

13

XI IEE がトランスポゼースとともに引き起こす DNA 融合の  
分子機構の解析

岸野 廉

14

BP 賞選考内規

15

## BP 賞受賞者へのお祝いの言葉

沖 昌也 (BP 賞選考委員長)

BP 賞のご受賞おめでとうございます。日本遺伝学会では、「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」ことを願い、才能と情熱を傾けた結果としての発表を選抜褒賞し、研究者育成の一助となることを目指して2001年に Best Papers (BP) 賞が創設されました。BP 賞は一般演題を対象に、幹事、評議委員、編集委員、座長の投票により決定されます。昨年度までは、BP 賞の受賞者の発表は大会終了後に改めて連絡する形を取っていましたが、大会の熱気が冷めない大会中の発表の方が良いのではないかと幹事会での議論をもとに、今年度は、初めて最終日の総会で受賞者を発表するという形を取らせて頂きました。初めての試みでいろいろと不安要素はありましたが、大きなトラブルもなく終えることが出来ホッとしています。

コロナ禍の影響で日本遺伝学会は、1 昨年は中止、昨年はオンライン開催でしたが、今年度第94回大会は遠藤俊徳大会長のもと北海大學（札幌）でハイブリッド開催されました。会場での、発表者の堂々と発表する姿、活発な議論を目の当たりにし、やはり現地開催の重要性を改めて認識させられました。

本編では、第94回大会で Best Papers (BP) 賞に選ばれた 11 演題について受賞者の研究紹介記事を掲載しています。今回選ばれた研究分野は、「遺伝子発現・翻訳」、「反復配列・トランスポゾン」、「分子進化・分子系統／生物情報・遺伝資源」、「変異・修復／染色体構造・ゲノム再編成」、「DNA 複製・組換え／方法論・技術」、「遺伝子発現・翻訳」、「エピジェネティクス」と多岐に及んでおり、各セッションのレベルの高さを反映している結果であると思います。また、日本遺伝学会は長年台湾との研究交流を行ってきましたが、今回、台湾の学生の発表が BP 賞に選ばれたことは、その成果が形となって現れ大変喜ばしいことだと思います。これを機会に海外との更なる研究の交流が発展することを期待します。

最後になりますが、日本遺伝学会および年次大会は、準備・運営はもちろん、発表や参加に関わった皆様すべての貢献で成り立っています。皆様に厚くお礼申し上げ、巻頭言とさせていただきます。



# DDR 複合体による熱活性型レトロトランスポゾンの制御機構

牛 小莹 北海道大学 生命科学学院 生命システム科学専攻  
 ぎゅう しょうえい



牛 小莹 Niu Xiaoying 陳 露 Chen Lu 伊藤秀臣 Ito Hidetaka 加藤敦之 Kato Atsushi

転移因子（トランスポゾン）はあらゆる生物に存在する“動く遺伝子”であり、トランスポゾンの転移はゲノムに悪影響を与える可能性がある。そのため、トランスポゾンの転移制御は、宿主にとって自身のゲノムの安定性を守るために重要である。ほとんどのトランスポゾンはDNAのメチル化やヒストン修飾などのエピジェネティックな修飾により転写が抑制されているため、その転移制御機構の詳細は明らかになっていない。本申請者が所属している研究室では、シロイヌナズナにおける熱活性型レトロトランスポゾン *ONSEN* を同定した (Ito et al., Nature, 2011)。*ONSEN* は37°Cの熱ストレスで転写が活性化し、染色体外DNAを産生する。野生型のシロイヌナズナでは、世代を超えた *ONSEN* の転移は見られないが、siRNAを介したトランスポゾンの転写制御機構であるRNA-directed DNA methylation (RdDM) 経路の変異体では、熱ストレスにより *ONSEN* の世代を超えた転移が見られた (Fig. 1)。

RNA誘導型DNAメチル化 (RdDM) 経路はトランスポゾンのサイレンシング機構において重要な役割を担っている。DDR複合体は、DRD1、DMS3、RDM1からなり、RdDM経路の重要な構成要素となっている。DDR複合体はRNA polymerase V (Pol V) に依存する転写に必要で、Pol Vの上流で機能し、Pol Vの活性を調節し、クロマチンへのPol V結合を安定化させることが知られている。本発表では、DDR複合体による *ONSEN* の活性制御について解析し

た。DDR複合体のいずれかのタンパク質を欠失させると、*ONSEN* の転写量が上昇した。48時間の熱ストレス処理をしたDDR複合体の三重変異体で *ONSEN* の世代を超えた転移が見られた。しかし、DDR複合体の構成要素であるDRD1、DMS3、RDM1それぞれの変異体では、*drd1* のみで *ONSEN* の転移を観察された。このことから、DRD1がDDR複合体依存的な *ONSEN* の転移抑制に重要な役割を担っていることを示唆された。

DRD1は植物に特異的なSNF2様タンパク質であり、クロマチンリモデリング因子として、遺伝子座へのPol Vの物理的な結合に寄与して、抑制的なヘテロクロマチンを構築することで隣接するトランスポゾンの転写を抑制している。RdDMの上流段階では、Pol IIやPol IVによって作られた転写物がsiRNAを生成する。RdDMによるDNAのメチル化に対して、Pol Vによって作られるlncRNAが重要である。トランスポゾンのサイレンシングはPol V転写産物とsiRNAの生成の総合効果が必要である。先行研究でPol Vの機能喪失変異体である *nrpel* において、*ONSEN* の転移が観察された。また、DRD1がNRPD1b (NRPE1) の局在に影響を与え、NRPD1a (NRPD1) の活性に影響を与える可能性があり、間接的にsiRNA量の蓄積量を減少させる。私たちの研究結果と合わせると、DRD1の欠失によりPol VとPol IVの機能が損なわれ、間接的にlncRNAとsiRNAの存在量の減少につながり、RdDMプロセスの完成が損なわれるという仮説を提案する (Fig. 2)。しかし、lncRNAとsiRNAは完全には消失されないため、*ONSEN* の活性化には長期的環境ストレスが必要である。*ONSEN* のサイレンシング機構におけるlncRNAとsiRNAの役割については、今後研究が必要である。

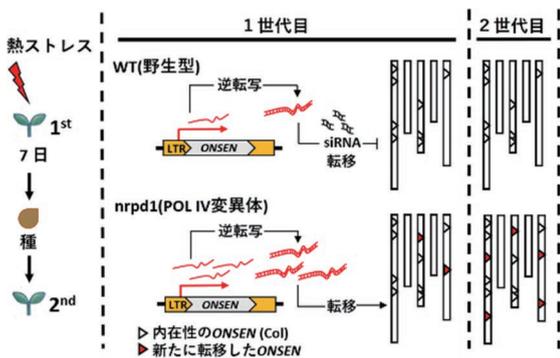


Fig. 1 *ONSEN* 活性化メカニズム

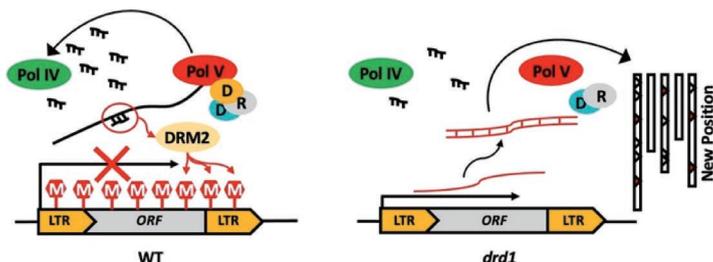


Fig. 2

## 引用文献

Ito, H., Gaubert, H., Bucher, E. et al. (2011). An siRNA pathway prevents transgenerational retrotransposition in plants subjected to stress. Nature. 472, 115-119. doi: 10.1038/nature09861.



# Origin and evolution of nitrogen fixation in prokaryotes

Hong-Wei Pi Ph. D. Program in Microbial Genomics, National Chung Hsing University and Academia Sinica / Biodiversity Research Center, Academia Sinica

## Background:

The origin of nitrogen fixation is an important issue in evolutionary biology. While nitrogen is required by all living organisms, only a small fraction of bacteria and archaea can fix nitrogen. The prevailing view is that nitrogen fixation first evolved in archaea and was later transferred to bacteria. The archaea-first hypothesis was based on the observation that the archaea form earliest lineages in the phylogeny of nitrogenases. Although >30,000 prokaryotic genomic sequences, new isotopic data and new groups of nitrogenases have been discovered, no research has challenged this long-standing evolutionary hypothesis.

## Purpose and results:

I analyzed 30,238 bacterial and 1,672 archaeal genomes



Wen-Hsiung Li Hong-Wei Pi

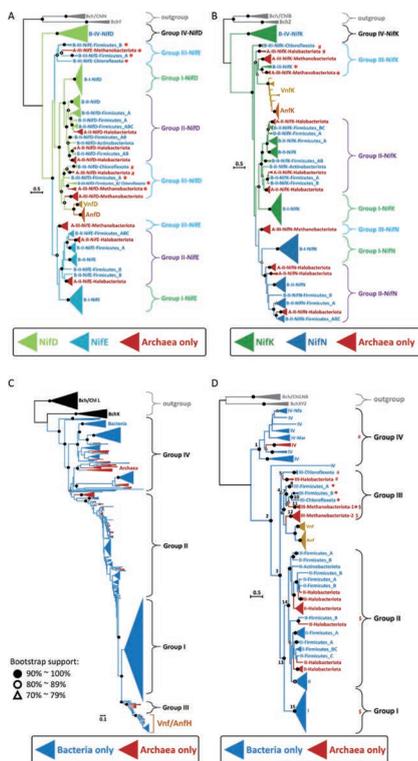


Figure 1. Maximum likelihood phylogenies of the nitrogenase sequences.

(A) The phylogeny of 487 Nif/Vnf/AnfD and E sequences. (B) The phylogeny of 476 Nif/Vnf/AnfK and N sequences. (C) The phylogeny of 3,535 Nif/Vnf/AnfH sequences. (D) The phylogeny of 326 concatenated Nif/Vnf/AnfHDK sequences.

The light-independent protochlorophyllide reductase (Bch/Chl) and chlorophyllide a reductase (Bch) sequences are applied as the outgroup. The protein sequences are classified into Groups I, II, III, IV, Vnf and Anf. The scale bar denotes 0.5/0.1 amino acid substitutions per residue site.

to study the origin and evolution of nitrogen fixation. The number of nitrogen-fixing species is ~18 times higher in bacteria (1,420 species) than in archaea (78 species). Thus, most known nitrogen-fixing species are bacteria. I further used their *nif* (nitrogen-fixing) genes to reconstruct phylogenies of NifH, NifD, NifK, NifE, NifN, and concatenated NifHDK (Fig. 1). In NifHDK tree, I used only linked HDK sequences, so that the three genes have the same evolutionary history. Fig. 1 indicates that Group IV is the oldest group of nitrogenases and bacterial sequences form well-supported earliest lineages while archaeal sequences are nested inside bacterial sequences. These results suggest that nitrogenase first evolved in bacteria. Moreover, I found that while the majority of archaea use WtpABC as the Mo transporter, the majority of nitrogen-fixing archaeal species, like bacteria, use the ModABC as the Mo transporter (Fig. 2). This finding strongly supports the bacteria-first hypothesis.

## Perspective:

This is the first study to propose the bacteria-first hypothesis. Moreover, this study demonstrates that, using the latest genomic data, various evolutionary views of microbes can be reexamined and sometimes challenged.

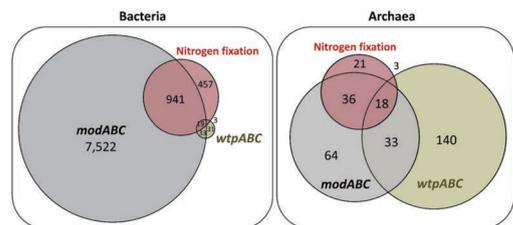


Figure 2. The association between Molybdenum transporters (ModABC and WtpABC) and nitrogen fixation. The Venn diagrams of nitrogen-fixing species (red color), modABC-gene-harboring species (gray color) and wtpABC-gene-harboring species (olive green).

## Reference:

Pi H-W, Lin J-J, Chen C-A, Wang P-H, Chiang Y-R, Huang C-C, Young C-C, Li W-H. 2022. Origin and evolution of nitrogen fixation in prokaryotes. *Molecular biology and evolution*, 39(9), msac181.



# 細胞の生存は量子効果に支配されている

安田 武嗣 量子科学技術研究開発機構 量子生命・医学部門 量子生命科学研究所  
 やすだ たけし

量子生命科学とは、量子論的視点で生命現象を解明する学問である。理論物理学者のジム・アル＝カリ＝リと分子生物学者のジョンジョー・マクファーデンによる著書「量子力学で生命の謎を解く」<sup>1)</sup>では、量子論的視点の対象として、光合成、磁気感覚、酵素作用、遺伝などを取り上げている。その一例として、1989年の先行論文では、アルコール脱水素酵素の反応に量子トンネル効果が関わるのが、速度論的同位体効果を指標にして示されている<sup>2)</sup>。量子トンネル効果とは、電子などの小さな粒子（量子）が、古典力学的には乗り越えられない反応に必要な障壁を、まるで障壁に開いたトンネルを潜り抜けるように通過するという現象である。重水素（D）は水素（H）よりも量子トンネル効果の確率が低いため、水素が反応に関わる酵素化学反応ではHをDに置き換えると反応速度が低くなるという速度論的同位体効果が現れる（図1）。また、反応温度が高い場合には量子トンネル効果無しに超えなければならない山（ポテンシャルエネルギー）を超えて反応が起こるため、量子トンネル効果は低下あるいは無くなるという温度依存性があり、これも量子トンネル効果の指標になっている。

我々は、SIRT3 脱アセチル化酵素による DNA 修復酵素 RAD52 の「脱アセチル化反応」<sup>3)</sup>、I-SceI による「DNA 切断反応」、アポトーシスに関わるカスパーゼ-3による「タンパク質切断反応」に関して、量子トンネル効果が関与することを速度論的同位体効果とその温度依存性によって明らかにした（図2）。酵素化学反応溶液中の H<sub>2</sub>O を D<sub>2</sub>O に変えたことにより、これらの酵素化学反応速度は約1/2に減少した。一方、細胞を D<sub>2</sub>O で作製した培養液に晒すと、SIRT3 や I-SceI に依存した細胞内の DNA 相同置換え修復がほぼ完全に阻害された（図3A）。相同置換えは、通常の細胞の増殖にも必要であるが、D<sub>2</sub>O に晒した細胞では、細

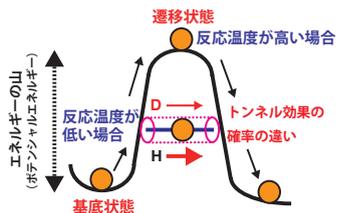


図1 量子トンネル効果と速度論的同位体効果

量子トンネル効果は、反応温度が低くポテンシャルエネルギーを超えられない場合に起こる。水素（H）は重水素（D）よりもトンネル効果の確率が高いため、反応速度が速い。

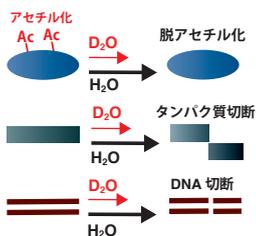


図2 酵素化学反応の速度論的同位体効果

タンパク質の脱アセチル化、タンパク質切断、DNA切断の酵素化学反応に関して、反応溶液中の H<sub>2</sub>O を D<sub>2</sub>O にすると反応速度が低下する速度論的同位体効果が検出された。



胞死が誘導された。細胞内のヒストンのアセチル化は、アセチル化酵素と脱アセチル化酵素の活性のバランスにより変化し、転写制御に関わる。そして細胞を D<sub>2</sub>O に晒すと、細胞内のヒストンアセチル化と転写が誘導された（図3B）。

量子効果に関わる細胞への重水の影響は、予想をはるかに超えて大きかった。この原因として、細胞内で連続して起こる酵素反応のそれぞれで起こる同位体効果による速度減少の相乗効果として最終的な影響が現れたから、と考えられる。「生命の起源」において、生物は地球上の水素のほとんどの割合を占める H に最適化されて誕生したのかもしれない。そのため、水素として H のみ存在する環境では量子効果の存在が細胞の生存に表立った悪影響は及ぼさないようになっていると考えられるが、地球上には本来ごく僅かしか存在しない D だけが水素として存在している世界では、量子効果の想定外の影響のために、ヒトを含む生物は生きられないと考えられる。今後は、生命現象がどれほど量子効果によって支配されているのか明らかにしたい。

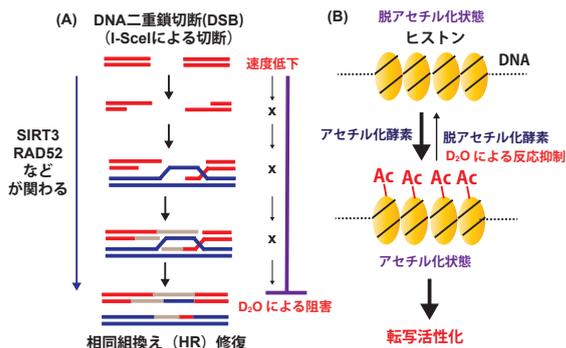


図3 重水（D<sub>2</sub>O）による細胞への影響

(A)HR 修復には、SIRT3 による RAD52 の脱アセチル化などが関わる。D<sub>2</sub>O に晒された細胞では、I-SceI による切断で生じた DSB 部位に対する HR 修復が完全に阻害された。(B)D<sub>2</sub>O に晒された細胞では、ヒストンのアセチル化が誘導され、転写が活性化された。

## 引用文献

- 1) Al-Khalili and McFadden (2014) Life on the edge: the coming of age of quantum biology. London, UK: Bantam Press
- 2) Cha et al., (1989) Science, 243, 1325-1330
- 3) Yasuda et al., (2018) Plos Genet, 14, e1007277



# 遺伝子様エピゲノムを獲得したトランスポゾンの発現調節機構

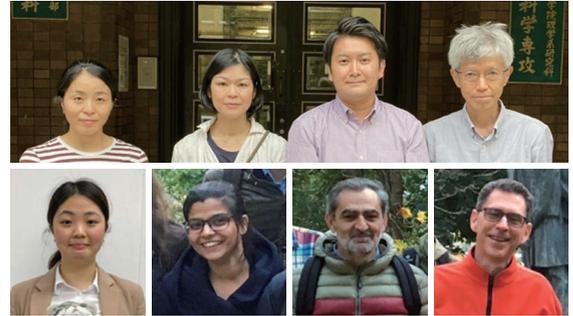
越阪部晃永  
おさかべ あきひさ

東京大学大学院 理学系研究科 生物  
科学専攻 遺伝学研究室/  
JST さきがけ

動植物のゲノム中に多量に含まれる可動性DNA（トランスポゾン）はその発現が宿主ゲノムの恒常性維持にとって有害となることから、通常はDNAやヒストンH3のメチル化などの抑制型エピゲノム修飾を受けて鎮静化されている。シロイヌナズナを用いたスクリーニングにより、抑制型エピゲノム修飾を維持する因子としてSNF2型クロマチンリモデリング因子をコードするDDM1（Decrease in DNA Methylation 1）が同定され、DDM1の機能喪失植物内において抑制型エピゲノム修飾の喪失と大量のトランスポゾンの脱抑制が報告された。しかし、DDM1によるトランスポゾン鎮静化のメカニズムは永らく不明であった。

我々は、DDM1が抑制型エピゲノム修飾以外のクロマチン構成因子ヒストンの亜種（バリエーション）をターゲットにしていると考え遺伝学および生化学的解析を行った。その結果、DDM1は種子植物特異的H2AバリエーションH2A.Wをトランスポゾンへ運び込んで鎮静化するという新規機構を見出した（図1）<sup>1)</sup>。さらに、DDM1の哺乳類オルソログHELLSもH2A.Wと類似した配列を有するH2AバリエーションmacroH2Aのクロマチン集積に関わることが報告されたことから<sup>2)</sup>、これらのクロマチンリモデリング因子群は動植物に共通した機構によってトランスポゾンを鎮静化することが示唆された。

一方で、H2A.W欠失植物では抑制型エピゲノム修飾の喪失は観察されず、ほとんどのトランスポゾンも野生型と同様に鎮静化されていた<sup>3)</sup>。したがって、DDM1機能喪失植物内で観察される抑制型エピゲノム修飾の喪失とトランスポゾンの脱抑制には、H2A.Wの脱離に加えて他の因子が関与することが考えられた。そこでゲノムワイドな解析を



上段 左から、  
小川公美、田中祐梨子、越阪部晃永、角谷徹仁  
下段 左から、  
山崎慈恵、Bhagyshree Jamge、Zdravko Lorkovic、Frederic Berger

行った結果、DDM1機能喪失植物内で特定のヒストンバリエーションへの交換が起り、トランスポゾンが通常の遺伝子の様なエピゲノム修飾を獲得して転写調節を受けることが今回明らかになった（図1）。

今後は、DDM1によるヒストンバリエーションのダイナミクスの分子機構、および特定のヒストンバリエーション獲得によるエピゲノム修飾の確立機構やそれを起因とした転写調節機構を明らかにしていきたい。

## 引用文献

- 1) Osakabe, A. *et al.*, *Nat. Cell Biol.* (2021)
- 2) Ni, K. *et al.*, *Nat. Commun.* (2020)
- 3) Bourguet, P. *et al.*, *Nat. Commun.* (2021)

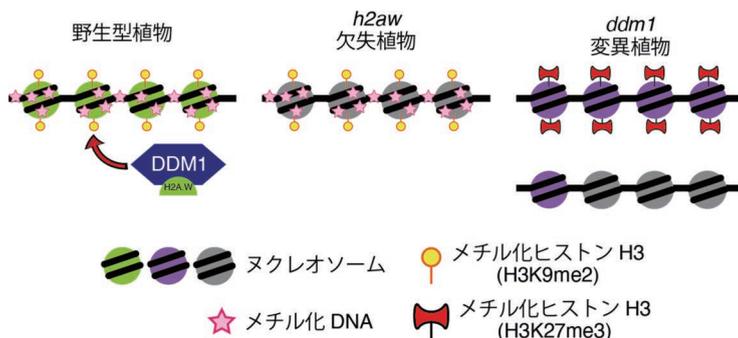


図1 各変異植物内におけるヒストンバリエーションとトランスポゾン発現調節の概略図

野生型植物において、DDM1はH2A.W（緑）と結合してトランスポゾンへ運び込む（左図）<sup>1)</sup>。一方で、DDM1機能喪失植物内では、H2A.Wの脱離の代わりに他のヒストンバリエーション（紫）がトランスポゾンに蓄積するようになる（右図）。さらに、DDM1の機能を失っても発現が抑制されたままのトランスポゾンには、新たに異なる抑制型エピゲノム修飾（H3K27me3）が集積していた。



# 細胞内エネルギー環境と DNA 修復経路選択の解析

辻本  
つじもと

怜  
れん

近畿大学大学院 農学研究科 バイオ  
サイエンス専攻 分子生物学研究室

細胞がん化の原因となる遺伝情報の書き換えはゲノム DNA の変異、転座、欠失・増幅などのゲノム不安定化によってもたらされるが、DNA 修復の正確性が失われることでゲノム不安定化が蓄積すると考えられている。DNA 二本鎖切断 (DSB) は最も重篤な DNA 損傷で、真核生物における DSB 修復経路は非相同末端結合 (NHEJ) と相同組換え (HR) があり、NHEJ は誤りがちな修復経路である。さらに NHEJ は Ku と Lig4 に依存的な canonical NHEJ (C-NHEJ) と非依存的な alternative NHEJ (A-NHEJ) 経路に分けられる。一方で HR は、DSB 末端の単鎖化 (resection) により開始し、無傷の鋳型 DNA の遺伝情報をコピーすることから正確性の高い修復方法である。ATP エネルギー消費の観点から DSB 修復経路を見てみると、NHEJ では DNA リガーゼによる末端再結合反応であるため、おそらく 10ATP 以下のエネルギー量で十分であるのに対し、HR ではリコンビナーゼ Rad51 の ATP 加水分解と、さらにクロマチンリモデラーや DNA ヘリカーゼも必要のため、100ATP 以上ものエネルギーが必要であるだろうと考えられる。糖代謝による細胞内での ATP 産生経路には嫌氣的な解糖系と好氣的な酸化的リン酸化の経路が存在し、好氣的経路のほうが産生効率がよい。しかし、がん細胞ではワーブルグ効果として知られているように好気条件下においても解糖系を用いたエネルギー代謝が亢進している<sup>1)</sup>。そこで細胞内のエネルギー代謝経路と DNA 修復経路の正確性には何かしらの関係性があるのではないかと考え、解糖系だけで生育可能な



辻本 怜 篠原美紀

出芽酵母を用いて好氣的 ATP 合成経路を阻害して解糖系に糖代謝経路を偏重させたときに DNA 修復経路に対する影響を解析した。

今回の実験で用いた出芽酵母 SLY19 株は、MAT 遺伝子座に導入される HO エンドヌクレアーゼ誘導性の DSB が通常経路の HR で修復される際に鋳型となる *HML/HMR* 領域を欠失している。そのためこの DSB は NHEJ でのみ修復可能となり、DSB 導入後の生存率は NHEJ 効率の指標となる<sup>2)</sup>。SLY19 株のミトコンドリアを破壊した  $\rho$ -株と、野生株に ATP 合成酵素阻害剤 Oligomycin を添加した場合の NHEJ 効率について解析を行った。その結果、 $\rho$ -株あるいは Oligomycin 添加群では DSB 導入後の NHEJ 効率が対照群と比較して有意に増加した (図 2)。次に修復部位のシーケンス解析を行い、A-NHEJ と C-NHEJ を区別し、さらに修復の際の DSB 末端の resection の有無によって C-NHEJ 経路内の分類を行った<sup>3)</sup>。その結果、C-NHEJ 経路による産物が有意に増加し、A-NHEJ 経路が減少することがわかった (図 2)。また、resection を伴わない C-NHEJ が顕著に増加していたことから、好氣的 ATP 合成阻害時は DSB 修復の resection 開始の段階を抑制する可能性がある。この結果は、好氣的 ATP 合成阻害時には resection 開始抑制によって HR を抑制すると同時に正確性の低い NHEJ の亢進を引き起こす事で、全体として DSB 修復の正確性を低下させている可能性を示唆している。今後は、今回の結果が好氣的 ATP 合成阻害によるものか、解糖系の亢進によるものかを区別し、さらに糖代謝経路に連携した DSB 修復の resection 開始制御の標的やシグナル経路などを明らかにしていきたいと考えている (図 3)。

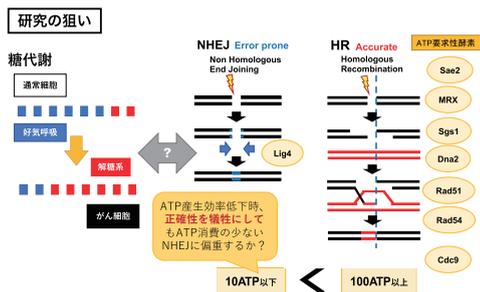


図 1 本研究の狙い

主たる DNA 二本鎖切断修復経路である NHEJ と HR では修復の正確性と消費するエネルギーが異なる。細胞内で糖代謝による ATP 産生経路が変わると修復経路に影響を与えるだろうか？

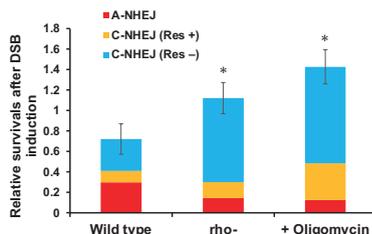


図 2 ATP 合成阻害時の NHEJ の効率と経路

棒グラフは SLY19 の野生株 (Wild type)、ミトコンドリア欠失株 ( $\rho$ -) と 2 $\mu$ g/ml oligomycin 添加時 (+ Oligomycin) での HO エンドヌクレアーゼ誘導性 DSB 導入後の細胞生育を指標とした NHEJ 効率と修復経路内訳、A-NHEJ (赤)、C-NHEJ のうち DSB 末端の単鎖化を伴う (C-NHEJ (Res+): 黄) あるいは伴わない (C-NHEJ (Res-): 青) 修復産物の内訳を示す。\* $p < 0.05$  (student's t-test)

まとめとモデル: ATP 産生と修復経路選択

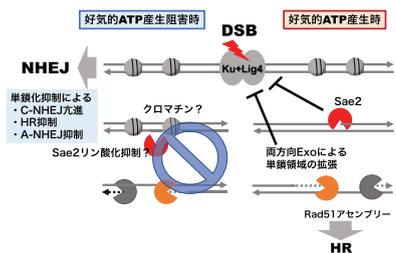


図 3 まとめとモデル

好氣的 ATP 産生阻害時には DSB 末端の単鎖化の過程が抑制されることで NHEJ が亢進している可能性がある。単鎖化に機能する Sae2 や Exo1 は NHEJ を抑制する事が知られていることから糖代謝と DSB 修復連携の標的である可能性がある。

## References

- 1) Koppenol, W. H., et al. *Nat Rev Cancer* 11, 325-337 (2011).
- 2) Ma, J. L., et al. *Mol Cell Biol* 23, 8820-8828 (2003).
- 3) Iwasaki, D. et al. *PLoS Genet* 12, e1005942 (2016).



# RNA polymerase II Ser7 リン酸化は、転写と共役したヌクレオソーム除去と再構築を促進して転写一時停止を安定化する

梶谷 卓也 福井大学 学術研究院工学系部門  
かじたに たくや

## 【背景】

真核生物の細胞内で、DNAはヒストンタンパク質に巻き付いたヌクレオソーム構造を形成し核内にコンパクトに収納されている。一方で、ヌクレオソーム構造は、転写装置RNA polymerase II (RNAPII) によるDNAの読み取りを阻害する立体障害の側面もある。そこで、RNAPIIは転写進行に伴い、立体障害であるヌクレオソームを弛緩させて通過し、転写後には正確に再構築が必要がある(図1)。しかし、転写と共役したヌクレオソーム除去と再構築の制御機構は明らかではない(図1「?」)。

RNAPIIは加速と一時停止(pausing)を繰り返しながらDNA上を転写する。近年、転写開始点直下の一時停止はストレスやホルモンなど、広義の環境応答遺伝子を転写直前で待機させる即応機構であることが明らかになった。興味深いことに、転写開始点直下の一時停止は、ヌクレオソーム密度の高い領域で起きやすいことが示唆されており、先に述べた転写と共役したヌクレオソーム除去と再構築が一時停止維持と解除にも重要であると予想される。

RNAPIIは、酵素活性ドメインとは別に、特定の構造を取らずに複合体から突出したC末端領域(CTD)を有する。CTDはYSPTSPSの7アミノ酸が多数(酵母では26回、哺乳類では52回)反復する特徴的配列である。CTDを構成するアミノ酸残基は転写中に高度にリン酸化され、転写制御の重要な指標である(図2)。

そこで我々は、転写と共役したヌクレオソーム除去と再

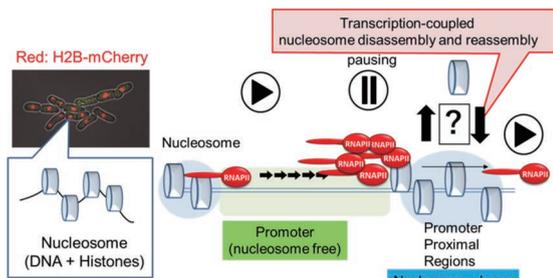


図1. 転写と共役したヌクレオソーム除去・再構築と転写一時停止の概念図

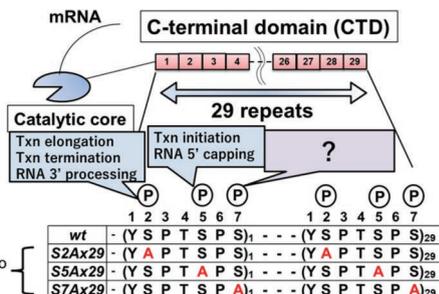
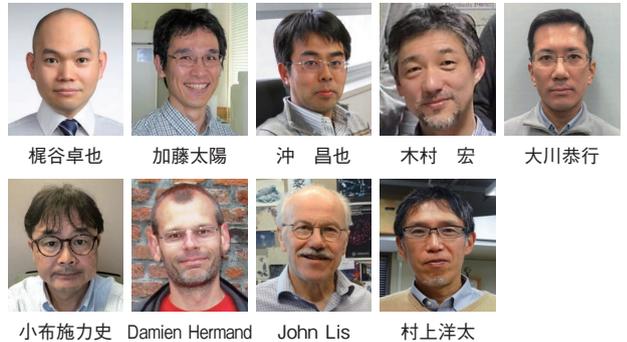


図2. RNAPIIの構造とCTDリン酸化の転写調節機能一覧図



構築機構の解明を目指し、分裂酵母においてヌクレオソーム密度の高い転写開始点直下の一時停止部位をモデル領域と設定し、ゲノミクス解析(ChIP-seq、PRO-seq、ATAC-seq)を突破口にこの仕組みの解明を目指した。

## 【結果】

これまで機能の解明が遅れていたRNAPII-CTD Ser7リン酸化が、以下の仕組みで転写と共役したヌクレオソーム弛緩と再構築を行い、転写一時停止を安定化させることを見出した(図3)。

- 1) CTD-Ser7リン酸化は、一時停止部位周辺で高度にリン酸化される。
- 2) CTD-Ser7リン酸化は、ヒストンシャペロンおよびモデリング因子と相互作用し、これらをヌクレオソーム密度の高い一時停止部位に集積させる。
- 3) シャペロンおよびモデリング因子が転写と共役したヌクレオソーム弛緩と再構築を行い、一時停止を安定化する。
- 4) CTD-Ser7リン酸化は、H2AZを含まないヌクレオソームを再構築する。
- 5) CTD-Ser7リン酸化は、SAGA複合体と協調的にヌクレオソームを再構築する。

## 【今後の展望】

我々の取得した変異株の解析から、転写と共役したヌクレオソーム除去と再構築の破綻が引き起こす興味深い現象を見出した。今後は、分子機構から生理的機能に視野を拡大して研究を進めていきたい。

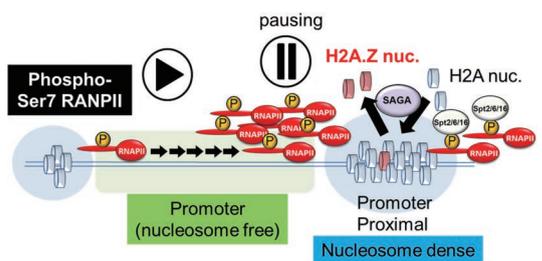


図3. CTD-Ser7リン酸化による転写と共役したヌクレオソーム除去・再構築機構



# 2種のDNAメチル化間のクロストークが植物エピゲノムパターン形成を駆動する

藤 泰子 東京大学大学院 理学系研究科 生物科学専攻  
とう たい こ

トランスポゾン (TE) は、脊椎動物や陸上植物のゲノムの大部分をしめ、ゲノム進化に大きく貢献する。その一方で、TEはその潜在的な転移能力からゲノム安定性の脅威となる。このため、ヒストン修飾やDNAメチル化など複数のエピジェネティック機構により抑制されている。しかし、植物がTEにおいて特異的に抑制修飾を構築する仕組みには不明な点が多かった。

植物のゲノムにおいては、DNAメチル化による抑制が重要である。植物では、CG配列のメチル化 (mCG) に加えて非CG配列も多くメチル化される (mCH; HはA, T,あるいはC)。mCGは、CGメチル化酵素であるMET1 (哺乳類DNMT1のオースログ) により維持される。一方mCHは、植物特異的なCHメチル化酵素CMT2およびCMT3 (以下、CMTs) によって触媒される。CMTsは、ヒストンH3K9のメチル化 (H3K9me) を多く含む領域にリクルートされ、また、H3K9meを修飾する酵素SUVHsはmCHを多く含む領域にリクルートされる。こうした修飾酵素の相互依存的関係から、植物のmCHは、H3K9meと正のフィードバックループを形成し、維持、増強される。このように、mCGとmCH (およびH3K9me) はほぼ独立に継承されることが知られるが、この両者が共にTEを多く含むヘテロクロマチン領域に集中する仕組みは不明であった。

植物においてDNAメチル化の確立に、RNAi経路が重要であることが古くから示されてきた。RNAi経路の下流で働く新規DNAメチル化酵素DRM2は、CG、CH両配列において新規メチル化する活性があり、植物において新規DNAメチル化に必須であると考えられてきた。我々の先行研究で、配列ごとにDNAメチル化の確立動態を調べた結果においても、TEにおけるmCGの確立はRNAi依存的事実であることが示されている。しかし一方で、mCHについては、RNAi経路非依存的に確立する経路が存在することを見出していた (Ref1)。

今回我々は、DNAメチル化が新たに確立する際には、これら2種のDNAメチル化が相互促進的に働くことを見出した (図1、Ref2)。mCGをゲノムワイドに減少させる *met1* 変異下においてmCHの構築動態を調べたところ、TEにおけるmCH構築はmCGの喪失により抑制されたことから、mCH構築がmCG依存的事実であることが示された。また、遺伝子から抑制修飾を除去するIBM1の非存在下では、遺伝子に局在するmCGも、mCH構築を促進する効果があり、mCG依存的事実なmCH構築が潜在的に起きていることが示された。このように、mCGは局所的にmCH構築を促進すると言える。

意外なことに、mCGがゲノム全体で低下した条件では、この経路が強力に働く (図2、Ref2)。すなわち、mCHの書き込み力は、局所的なmCGの量ではなくゲノム相対的なmCG量に規程されていることが示唆された。このことは、ゲノム全体のmCG量が減少した際に、mCH書き込み



角谷徹仁 竹内俊平 小田頌子  
山崎慈恵 藤 泰子

富永さやか

力を負に制御し、ゲノムのmCH量を一定に保とうとするはたらきがあることを示唆する。

以上より、2種のDNAメチル化間には、局所的に相互確立促進する正のフィードバック制御と、ゲノム包括的な負のフィードバック制御が存在し、これらが植物のエピゲノムパターン構築に貢献すると考える。

DNAメチル化やH3K9meによる抑制を仲介する因子の多くが植物のみならず動物にも保存されている。本研究により明らかとなった機構は、他の生物にも保存されている可能性がある。今後、この新たな経路のさらなる分子機構解明が、大きな波及効果を持つと期待される。

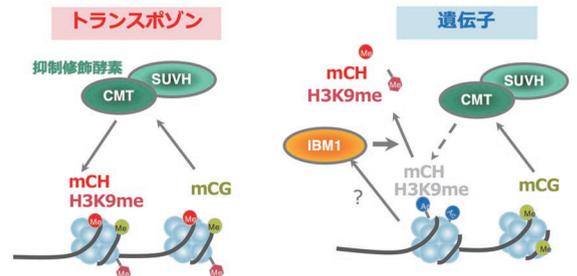


図1 トランスポゾンと遺伝子の両者においてmCGはmCH/H3K9meの新規確立に必要な



図2 ゲノム包括的な負の制御がmCH恒常性を補償する

- 1) To et al., 2020, Nature Plants, 6: 1455-1467.
- 2) To et al., 2022, Nature Commun, 13: 861.



# ショウジョウバエメスの精子保存器官で発現する GAL4 ドライバー

稲井 琴梨 京都工芸繊維大学 工学科学部 応用生物学課程  
 稲井 琴梨 京都工芸繊維大学 工学科学部 応用生物学課程

メスの生殖管は精子の通り道というだけでなく、精子の成熟、保存、そして選別のための場である。しかし、メスが精子を保存し、受精に有効に使うメカニズムはよく理解されていない。そこで私たちは、メス生殖管と精子の相互作用、特にメスによる精子選別の方法を解明するための第一歩として、管状受精嚢と受精嚢という特殊な精子保存器官をもつショウジョウバエ（図1）を使い、メス生殖管での GAL4 ドライバーの発現部位を調査した。

調査のための GAL4 ドライバーは管状受精嚢での発現が高い遺伝子などから合計100系統を選抜した。調査の結果、メスの生殖管のいずれかで発現しているもの68系統、管状受精嚢で発現しているもの55系統を得た。子宮や受精嚢などを含む、生殖管全体で発現しているドライバーに加え（図1右）、限定的な部位でのみ発現しているドライバー系統もあった。例えば、脂肪体でのみ発現しているもの、神

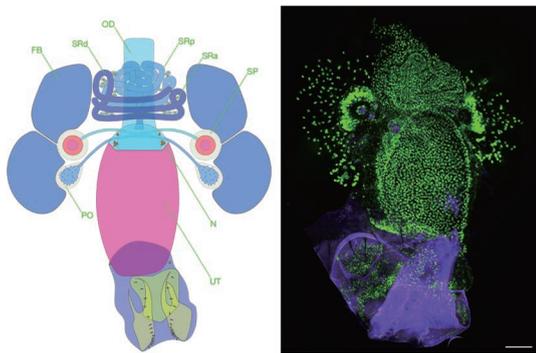


図1 ショウジョウバエメスの生殖管の模式図と GAL4 ドライバーの発現パターン。一度の交尾でメスは3週間ほどをかけ~400の受精卵を産む。そのためにメスは長期にわたり管状受精嚢 (SRp, SRd) と受精嚢 (SP) に精子を保存することになる。右図は put ドライバーの発現パターン。

経細胞で発現しているもの、管状受精嚢の近位側もしくは遠位側でのみ発現しているドライバーなどである。これらの多様なドライバー系統はこの先、部位特異的にノックダウンさせたいときになど様々な研究において役に立つことが期待される。

メスは精子を保存するだけでなく、受精障害を引き起こすような不良な精子を認識し、保存器官から排出する仕組みも持っているかもしれない。実際に、*Nepriyisin 4 (Nep4)* 遺伝子が欠損したオスの精子は交尾後、一旦は正常に管状受精嚢に入るが、すみやかに排出されてしまう（図2）<sup>1)</sup>。私たちは今回得られた GAL4 ドライバーを用いて、この不良精子の認識に関わる遺伝子を同定しようと研究を進めている。

そのためメスの生殖管で広範に発現している put ドライバー系統を用いて、RNAiによる遺伝子のノックダウンスクリーニングを行っている。スクリーニングする遺伝子は、雌の生殖管で発現している102の膜受容体遺伝子である。それぞれの遺伝子をノックダウンしたメスを *Nep4* 欠損オスと掛け合わせ、精子がメスの管状受精嚢からすみやかに排出されるか調べている。現在までに10遺伝子をスクリーニングし、不良精子の認識の関与が期待できる遺伝子をひとつ発見している。今後、残りの92遺伝子のスクリーニングを行い、不良精子を認識している候補遺伝子を詳しく研究していく予定である。

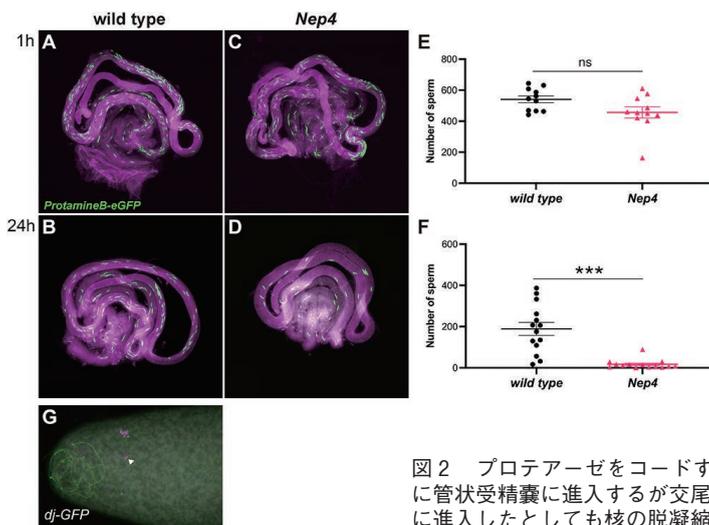


図2 プロテアーゼをコードする *Nep4* 変異体のオスの精子は交尾後、一旦は正常に管状受精嚢に進入するが交尾24時間後には精子はほぼ消失する。また、精子は卵に進入したとしても核の脱凝縮が起きず、受精を完了できない。

## 引用文献

- Ohsako, T. et al. (2021) Genes Genet. Syst. 96, 177-186.



# ゼニゴケの ArfB ホモログ

牧野 愛子  
まきの あいこ

岡山大学大学院 自然科学研究科 生物科学専攻

翻訳終結には終止コドンが必要不可欠であるが、細胞内では終止コドンのない mRNA (non-stop mRNA) が頻繁に生じ、翻訳を正常に終結できずにその 3' 末端まで到達して停滞したりボソームが蓄積する。停滞したりボソームの蓄積は翻訳活性の低下を惹起するため解消する必要がある。実際、真核、原核を問わず、細胞には停滞したりボソームをレスキューするシステムが備わる。

原核生物型リボソームレスキュー因子の一つ、大腸菌 ArfB (alternative ribosome rescue factor B) は翻訳終結因子のホモログで、停滞したりボソームに作用して終止コドン非依存的にペプチジル tRNA の加水分解を行い、翻訳を強制終了する活性を持つ。ArfB を含む翻訳終結因子はペプチジル tRNA の加水分解に必要な GGQ モチーフと呼ばれる共通配列を持つ。

葉緑体は細胞質よりも原核生物型に近い翻訳機構を持ち、葉緑体におけるリボソームレスキュー機構も原核生物型に



阿保達彦

牧野愛子

本瀬宏康

小山 巧

近いと考えられる。実際にシロイヌナズナには葉緑体に局在する ArfB ホモログ、AtArfB が存在する。しかし、AtArfB は大腸菌翻訳系でリボソームレスキュー活性を示すものの、AtArfB 欠損株は顕著な表現型を示さない。そこで本研究では ArfB 欠損による表現型を見出すことを目的として、シロイヌナズナ以外の植物種としてゼニゴケを選び、AtArfB のホモログを探した。得られた ArfB ホモログ MpARFB はゼニゴケ細胞内で葉緑体に局在し、大腸菌翻訳系で GGQ モチーフ依存的にリボソームレスキュー活性を示した。さらに、MpARFB 変異株を作出し表現型を探索したところ、通常の生育条件では明瞭な表現型を示さないものの、パーミキュライト土壌で遠赤色光により誘導される生殖器が形成不全となることを見出した。

葉緑体 ArfB を欠損するシロイヌナズナやゼニゴケがはっきりとした表現型を示さない理由として、他のリボソームレスキュー因子の存在が考えられる。そこでさらに探索を行い、GGQ モチーフと N 末端の葉緑体移行シグナルをもつゼニゴケ候補遺伝子を得た。現在、そのレスキュー活性を検証するとともに、MpARFB との二重欠損の影響を解析している。

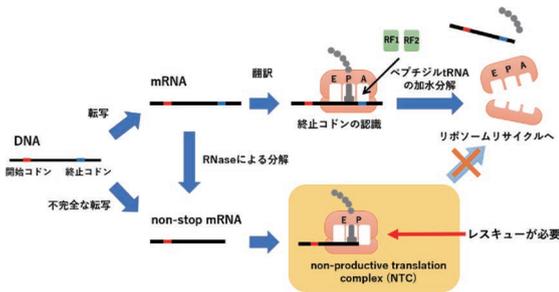


図 1. 翻訳終結とリボソームレスキュー

翻訳が終結するとリボソームはリサイクルされ、次の翻訳へと利用される。翻訳活性の維持には non-stop mRNA の 3' 末端で立ち往生したりボソームをレスキューする必要がある。

ArfB	MAAIRTMTMILREFIHPILLHSSSKSQSLPCLRLTPLSPHSMRLLSVRCAASTS--GSSGGD
AtArfB	MAGRLOAMATLQWAVSAPSAASAAAAGVQWNLAFSPSLSVSRVAGVCPAAARGCGLWQIRGMAGDGNAGEK
MpARFB	
ArfB	MIIVSRHVAIPDGELEITAIRADGAGGQHVNKTAIHLRFDIRAS-S
AtArfB	RKVSSRLSOVQOMLHEAERASSAGNEFTPOIILDVNLNFAFSSGPGGQVNVKLNITVDMRFVKNAYW
MpARFB	AKMFAFLVQVQKLLNDVPLDDYTG-RFTPKITMDHYITVFARSGGAGGQVNVKVKYQDMRFVMAASNW
ArfB	LPEYYKERLLAASHLIISSDGVIVIKADEYRQSELNREAAALRLVAMIKELT-----TEKKARPTPT
AtArfB	LSDRIREKILLTEKNRINKDELVSSSTKTRTKGNIDALEKLDATDAASYVPPPPSEFOKKKIKVLA
MpARFB	LPERILKLLQDEKMRINGEIEIVSSSTRTRTKGNIEDALAKLQMDIDAAAVGPPFPSEETKKIKOKLA
ArfB	RASKERRLASKAKQKSVKAMRGKVRSGRE
AtArfB	AKADWRLKSKKVLSDKKSARRSRGSYDD
MpARFB	QKNEFRLLQKQKSSKSDRRKNGSDW

図 2. 大腸菌 ArfB、シロイヌナズナ AtArfB、ゼニゴケ MpARFB の配列

AtArfB、MpARFB の N 末端には葉緑体移行シグナルが存在する。翻訳終結因子によるペプチジル tRNA 加水分解に必須の GGQ (Gly-Gly-Gln) モチーフを赤字で示した。



図 3. MpARFB 欠損株が示す生殖器形成不全表現型

パーミキュライト上で生育し、遠赤色光により生殖器の形成を誘導した。MpARFB 欠損株は雌雄株ともに生殖器形成不全の表現型を示す。

参考文献

Nagao et al., (2020) *Genes Genet. Syst.* 95: 119-131



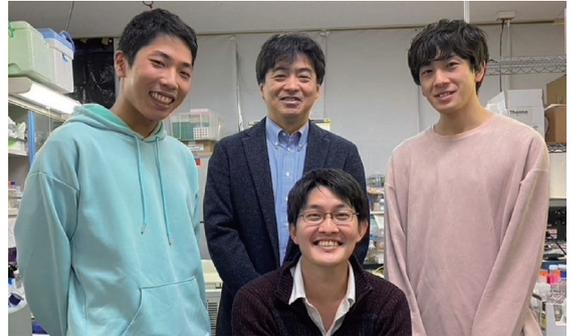
# ヒト非コード領域から翻訳される小さいタンパク質に対する機能性配列の探索

赤瀬 太地  
あかせ たいち

東京工業大学 生命理工学院 生命理工学コース/理化学研究所 生命医科学研究センター

近年、ヒトゲノムの非コード領域と推定されていた領域から、長さ100アミノ酸未満の小さいタンパク質が数千種類翻訳されている可能性が高くなってきました。しかしその一方で、これら小タンパク質の中で細胞内機能が実験的に報告されているものはごく僅かです。このような状況ではアミノ酸配列からの機能予測が求められます。長いタンパク質の場合はドメインを構造および機能の単位として捉え、ドメインの組み合わせからタンパク質の機能予測がなされるのが一般的です。しかし小タンパク質の多くが、天然変性タンパク質あるいは、その大部分が天然変性領域であることが示唆されているため、ドメインではなく、もっと小さいアミノ酸モチーフが機能単位である可能性が高いと考えられます。そこで私たちはこの仮説を検証する一端として、ヒト小タンパク質の細胞内局在を担うシグナル配列の探索を行いました。

RefSeqに登録されたヒト5'非翻訳領域の塩基配列をもとに、30コドン以上のORFを40,000個以上抽出し、そのアミノ酸配列をマウスのホモログと比較することで、アミノ酸配列が高度に保存された128個の小タンパク質を選定しました。これらは哺乳類種内で類似の機能をもつ可能性の高い小タンパク質だといえます。選定した128個の小タンパク質の細胞内局在性を調べるため、それぞれの小タンパク質



左：橋本陽太、上：相澤康則、右：松本篤樹、下：赤瀬太地

に蛍光タンパク質（GFP）をC末端に融合した状態で発現させた際の細胞内分布を共焦点蛍光顕微鏡で観察しました。観察の結果、128個の小タンパク質から、核やミトコンドリアといった細胞内小器官に局在する小タンパク質43個を同定するに至りました。

次に、細胞内局在性を示した小タンパク質からシグナル配列領域を特定するため、ミトコンドリアに局在する17個の小タンパク質それぞれに対し、アミノ酸配列を末端から10アミノ酸ずつ欠損させた変異体を作成、それらの細胞内局在性を観察することでシグナル配列の特定を目指しました。その結果、特定した17個のシグナル配列のうち8つは、N末端に存在し、 $\alpha$ ヘリックス構造を形成しやすく、かつ正電荷アミノ酸が多く含まれるような典型的なシグナル配列であることが分かりました。一方で残りの9つは、C末端や配列内部に存在するものや、負電荷アミノ酸を多く含むものなど、非典型的なシグナル配列であり、一般的なミトコンドリアタンパク質とは異なる相互作用で局在している可能性が示唆されました。

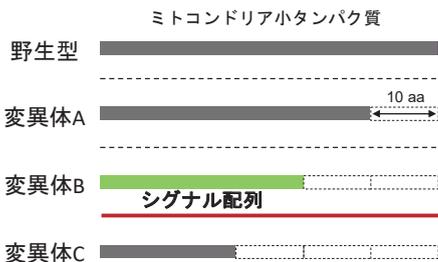
今後は、小タンパク質ミトコンドリアシグナル配列の特性の解析と、アミノ酸モチーフの探索を進め、小タンパク質内の短いモチーフが、どのような分子間相互作用に関与するのかを明らかにしていきたいと考えています。



図1 細胞内局在性を示した小タンパク質43個の分類

観察を行った128個のうち、43個の小タンパク質が細胞内小器官への局在性を示しました。細胞内小器官の判定は、既知の局在性タンパク質やマーカー分子（MitoTracker等）との共染色によって実施しました。

## 欠損変異体の作成



## 顕微鏡観察

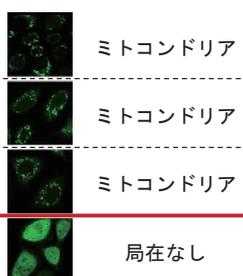
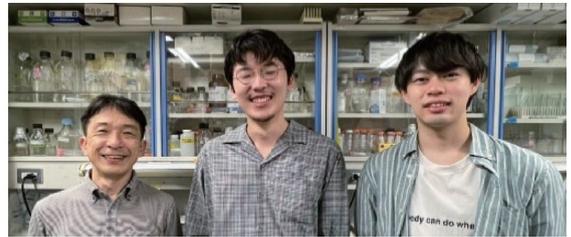


図2 欠損変異体を用いたシグナル配列の特定法  
末端から10アミノ酸ずつ欠損させた変異体を作成し、その顕微鏡観察を行いました。図はC末端側の欠損変異体を使用したシグナル配列探索の例を示します。黄緑で示す部分は欠失することで局在性を消失する配列（シグナル配列）を示します。同様の実験をN末端側の欠損に対しても実施しました。



# IEE がトランスポゼースとともに引き起こす DNA 融合の分子機構の解析

岸野 廉 立教大学大学院 理学研究科 生命理学専攻  
 きしの れん



関根靖彦 岸野 廉 武藤駿太郎

生物のゲノムにはトランスポゾンが普遍的に存在している。DNA 型のトランスポゾンは、転移に伴って隣接領域の欠失や逆位などのさまざまな DNA 組換えを引き起こす。IS-Excision Enhancer (IEE) は、DNA 型トランスポゾンである Insertion Sequence (IS) にコードされたトランスポゼース (Tnp) の存在下で IS-excision (IS の切り出し) を誘発する因子として、腸管出血性大腸菌 O157:H7 Sakai 株から見つかった<sup>1)</sup>。我々は、IEE と Tnp が IS-excision だけでなく、プラスミドが大腸菌染色体上の IS 隣接領域へ挿入することにより両分子の融合体が生じる現象を発見した。

この融合体の配列を解析したところ、DNA 融合の際に生じる 2 つの組換え点の各々に配列上の特徴を見出し、それぞれの箇所で IEE と Tnp が別々に働いていると考えられた (図 1)。IS の末端には Tnp の結合領域である inverted repeat (IR) が存在する。融合体における IR に近い方の組換え点 (図 1 の組換え点 A) 付近のプラスミド由来配列には IR に似た領域 (疑似 IR) が見られた。そこでプラスミド側に新たに真正 IR を導入したところ、染色体上に存在する疑似 IR とプラスミドの真正 IR が隣り合う形の融合体が生じていた。また、融合体形成頻度は著しく上昇しており、これは疑似 IR が染色体上に多数存在するためだと考えられる。IS の転移過程では Tnp による IS の両端の IR 間での鎖交換が起こるが、融合体形成においては同様の反応が異なる分子上の IR の間で起こること、この場合 Tnp による IR 認識は厳密ではないことが示された。融合体のもう一方の組換え点 (図 1 の組換え点 B) には、1-3 bp の短い相同配列 (microhomology) が存在していた。IEE が DNA 末端の microhomology をアニーリングさせ、ポリメラーゼ活性によって 2 つの DNA を繋ぐ microhomology-mediated end joining (MMEJ) 活性を持つと予想し、精製 IEE タンパク質を用いた *in vitro* 反応系で解析したところ、IEE は 8 bp の

microhomology があるときに MMEJ 活性を示した (図 2)。また、MMEJ 活性は低下するがポリメラーゼ活性は低下しない変異 IEE を産生する大腸菌において融合体形成頻度が低下したことから、IEE による microhomology のアニーリングが DNA 融合に重要であることが示唆された。

IEE と Tnp による DNA 融合は、数 kbp の外来 DNA が配列の厳密な特異性によらず染色体に挿入される現象である。IEE は外来 DNA を染色体に取り込むことにより新しい遺伝子の獲得に寄与する可能性が考えられる。実際に大腸菌ゲノムを比較すると、IEE によって染色体に挿入されたとであろう菌株特異的な配列の存在を見出すことができる。IEE は細菌界に幅広く保存されているため、今後は IEE と Tnp が細菌のゲノム進化にどの程度影響しているのかを明らかにしていきたい。また、IEE の生化学的活性や相互作用因子の解析にも引き続き取り組み、IEE による DNA 組換えの詳細な分子機構を明らかにしたいと考えている。

1) Kusumoto M., *et al.*, *Nat. Commun.*, 2: 152 (2011)

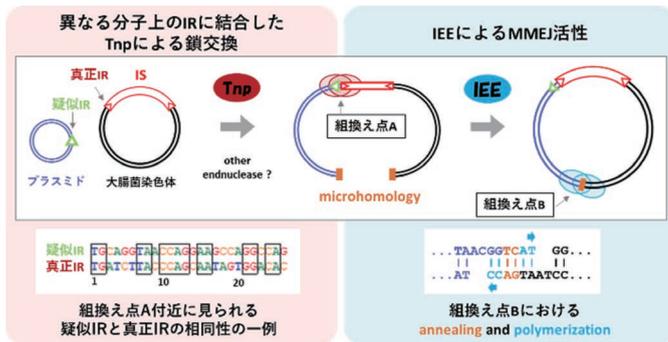


図 1. IEE が Tnp とともに誘起する DNA 融合の分子機構モデル

DNA 融合反応の過程は 2 段階に分けられる。① Tnp による異なる分子上の IR 間での鎖交換。一方の IR は真正 IR との相違が許される疑似 IR であり、したがって様々な部位で組換えが起こる。② IEE による 2 つの DNA 末端の結合 (MMEJ)。短い相同配列のアニーリングとそれに続くポリメラーゼ反応の結果、DNA 末端が連結される。

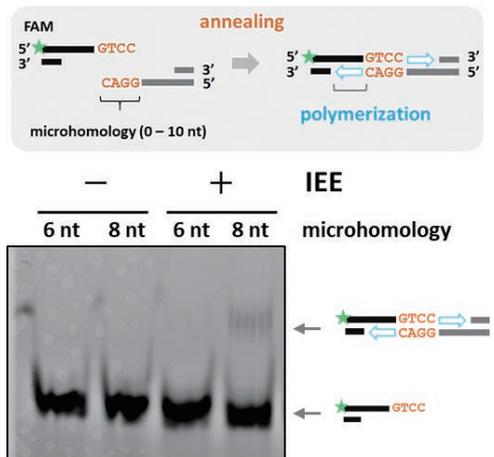


図 2. IEE による MMEJ 活性の検出

microhomology が 0-10 bp となるように設計した DNA 基質 (上段) を用いて、IEE の MMEJ 活性を検証したところ、microhomology が 8 bp のときに IEE の MMEJ 活性を確認できた。*in vivo* で起こった融合体産物の配列解析で見られる microhomology は 1-3 bp であるため、細胞内には IEE の MMEJ 活性の促進因子が存在すると考えられる。

# 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承認を経て、正式なものとする。

## 2 BP 賞投票権者

評議委員会メンバー（会長、幹事、役員、評議委員）、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認を得て企画・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、評議委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、備考論に「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**：評議委員会メンバー・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の名前を記した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。  
2022年9月16日 一部改正（7. BP 賞の発表の2）。

遺伝学のパラダイムシフトを目指して(Ⅲ)

2022年12月20日発行 非売品

発行者 岩崎 博史

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 公益財団法人 遺伝学普及会 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

公益財団法人 遺伝学普及会 日本遺伝学会

<https://gsj3.org>

( 電話・FAX 055-981-6736

振替口座・00890-1-217316

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。