



ゲノムは非常に安定に振る舞う反面、融通無碍（ゆうずうむげ）に変化する面を合わせ持つ。それはメガ塩基レベルの大きな変化から、「変異」と呼ばれる1塩基レベルの小さな変化まで様々だ。当研究室ではこのようにダイナミックに変化するゲノムに焦点を当て、そのメカニズムと生物学的な意味を明らかにしようとしている。特にゲノム変化の原因となる「複製・組み換え・変異生成」などの分子レベルの過程と、「ゲノム安定性・遺伝子増幅・遺伝子進化」などの生物学的に重要な過程の間に存在するであろうダイナミックな関係を突き止めたい。

複製阻害による組み換えの活性化

複製の阻害によって、組み換えが活性化されることを大腸菌で見出した。大腸菌ゲノムには複製を阻害する部位（Terと呼ぶ）が知られており、その阻害部位近傍の組み換え頻度が著しく上昇したからだ。このようにゲノム上の高い組み換え領域を「組み換えのホットスポット」と呼ぶ。つまり複製阻害点はホットスポットであるが、阻害不能になった変異株では、コールドスポットになり、他の領域との区別がなくなる。この現象は、複製が正常に進行しなくなった時、その回避あるいは再構築のために起こる生物反応の一部ではないかと考えた。それならば、この反応が普遍的である可能性があり、同様なことが真核生物でも起こるかどうかを調べた。

複製阻害による遺伝子増幅

複製の阻害部位は、バクテリアのみならず真核生物（酵母からヒトまで）のゲノムにも存在する。場所はリボソームRNA 遺伝子（rDNA と呼ぶ）にある。真核生物のrDNAは、典型的な「繰り返し（リピート）遺伝子」として知られる。例えば出芽酵母では約200コピーのrDNAが12番染色体の一個所に集中している。このようなリピート遺伝子は、高等動植物ゲノムに広く存在するリピート配列と同様不安定で、そのコピー数が常時変動している。また、何らかの理由でコピー数が激減しても、自律的に回復し元に戻る。我々は複製阻害部位（RFBと呼ぶ）における阻害が不能になった変異株を分離し、その原因遺伝子（*FOB1*）を同定した。この遺伝子産物 Fob1 タンパクは RFB に結合し、複製を阻害する。この変異株では rDNA 領域の組み換えが起こらなく

www.nibb.ac.jp/gene2/

ゲノム動態研究部門

なるが、驚いたことに rDNA コピー数の増減が停止しフリーズしたのである。この現象は、基本的に大腸菌の複製阻害による組み換えの活性化と非常によく似ていた。この発見が、rDNA を含めそれまで未解決であった遺伝子増幅の機構解明の突破口になった。その後の解析から、染色体の構造維持やダイナミクスに重要な役割を担うことで知られる SMC タンパクファミリーのメンバーである、コヒーシンやコンデンシンが、それぞれ rDNA 領域の特異的部位に結合し、コピー数増減のコントロールやリピート構造維持に特異的で必須な役割を果たすことを明らかにしつつある。例えば、これまで M 期（分裂期）の染色体凝縮と分配に働くと考えられてきたコンデンシンが、S 期（DNA 合成期）の rDNA の複製阻害部位（RFB）に、阻害タンパク（Fob1）依存的に結合することを見出しており、その結合機構と意味を解析中である（図1参照）。

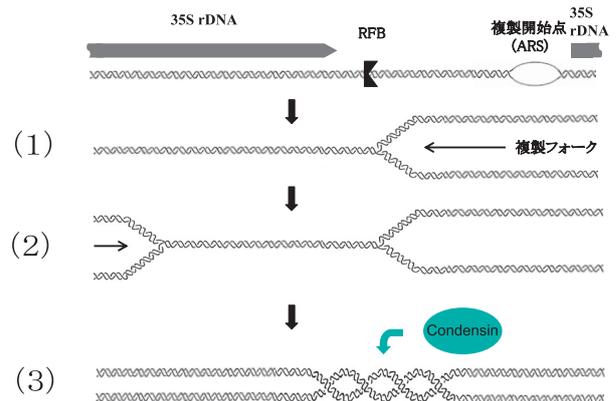


図1 染色体凝縮タンパク「コンデンシン」のrDNA複製阻害部位（RFB）への特異的結合モデル

(1) 複製開始点（ARS）から開始した左向き複製は、RFBで阻害される。(2) 他のARSからの右向き複製が近づいてくる。(3) 複製の会合に伴い、一部の捻れが解けず、2本の姉妹染色体同士に絡まった部分として残る。この構造をカテナーションと呼ぶ。この構造をコンデンシンが認識し結合する。

遺伝子増幅と遺伝子進化

「生物の進化」はもちろん生物学の大問題であるが、それには「遺伝子の進化」が起こる必要がある。各生物種のゲノム配列決定により、多量で詳細な遺伝子構造間の比較がなされているものの、そこから遺伝子進化の遷移状態や機構が簡単にはわかりそうにない。一般には、遺伝子進化（一つの遺伝子から異なる機能を持つ遺伝子への変化）には、まず遺伝子コピーの増加が先行するという。次にそれらへの多数の変異が導入された後、選択圧が掛かり、それら遺伝子集団の中から新しい機能を獲得した遺伝子が選ばれるのが一つの考え方であろう。その視点から rDNA の増幅を見ると、その速度は 1 コピー／世代で極めて遅く、環境の急激な変化（例えば農薬散布）には、より素早い増幅が要求されよう。そこで、出芽酵母を用いて、出来るだけ早い増幅速度を有する新たなシステムを考案し試みたところ、一世代で 100 コピー以上増幅する系の開発に成功した(図2参照)。この解析から、ゲノム構造上の簡単な条件さえ整えば、生物は爆発的な遺伝子増幅能力を有していることを知るに至った。この系を足掛かりに、魅力に富んだ未知領域、「遺伝子増幅から遺伝子進

化へ」の具体的過程を明らかにするため、実験的なチャレンジを始めつつある。

参考文献

1. Kodama, K., Kobayashi, T., Niki, H., Hiraga, S., Oshima, T., Mori, H., and Horiuchi, T. (2002). Amplification of Hot DNA segments in *Escherichia coli*. *Mol. Microbiol.* **45**, 1575-1588.
2. Kobayashi, T., Horiuchi, T., Tongaonlar, T., Vu, L., and Nomura, M. (2004). *SIR2* regulates recombination between different rDNA repeats, but not recombination within individual rDNA genes in Yeast. *Cell* **77**, 441-453.
3. Kobayashi, T., and Ganley, A.R.D. (2005). Recombination regulation by transcription-induced cohesin dissociation in rDNA repeats. *Science* **309**, 1581-1584.
4. Watanabe, T., and Horiuchi, T. (2005). A novel gene amplification system in yeast based on double rolling-circle replication. *EMBO J.* **24**, 190-198.
5. Hayashi, K., Morooka, N., Yamamoto, Y., Fujita, K., Isono, K., Choi, S., Ohtsubo, E., Baba, T., Wanner, B.L., Mori, H., and Horiuchi, T. (2006). Highly accurate genome sequences of *Escherichia coli* K-12 strains MG1655 and W3110. *Mol. Systems Biol.* doi:10.1038/msb100049:E1-E5.
6. Johzuka, K., Terasawa, M., Ogawa, H., Ogawa, T., and Horiuchi, H. (2006). Condensin loaded onto the replication fork barrier site in ribosomal DNA (rDNA) repeats during S-phase in a FOB1-dependent fashion to prevent contraction of a long repeats in *S.cerevisiae*. *Mol. Cell. Biol.* **26**, 2226-2236.

新しい遺伝子増幅法

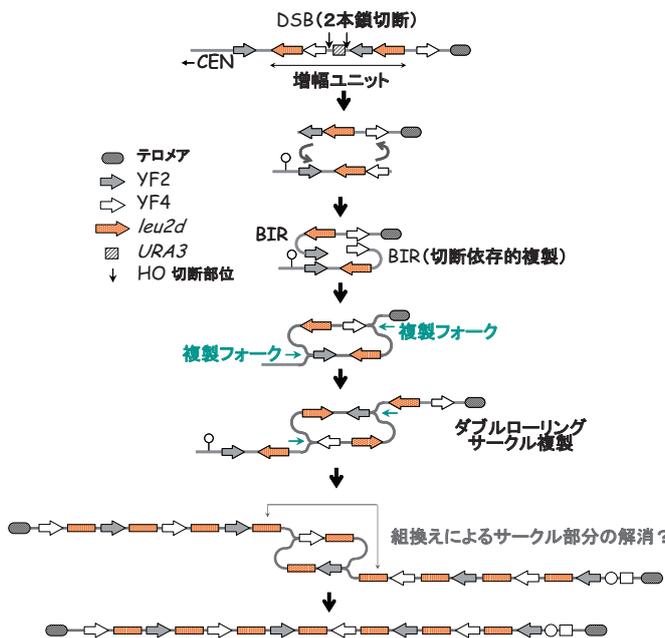


図2. 新しい高速遺伝子増幅システム

ダブルローリングサークル複製 (DRCR) による、高速遺伝子増幅システム。増幅ユニット内の 2 本鎖切断 (DSB: double strand break: 矢印) により DNA が陥った危機から、逃れるための反応 (BIR: break induced replication) により DRCR が誘導され、サークル部分 (白、灰色、赤矢印) のみが果てしなく複製を繰り返す、リピートとして両側に伸長していく。最終的にサークル部分が組換えで除かれ、高度に増幅された染色体ができる。

STAFF



堀内 嵩
教授



小林 武彦
助教授



定塚 勝樹
助手



渡邊 孝明
研究員

技術課技術職員
諸岡 直樹

博士研究員
児玉 顕一
崔 泰林
AUSTEN, Ganley
大住 克史
芹澤 尚美

総合研究大学院大学院生
板津 昌子

事務支援員
三上由利子