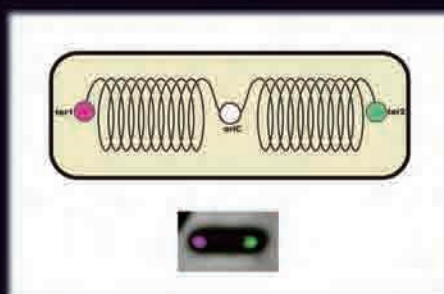
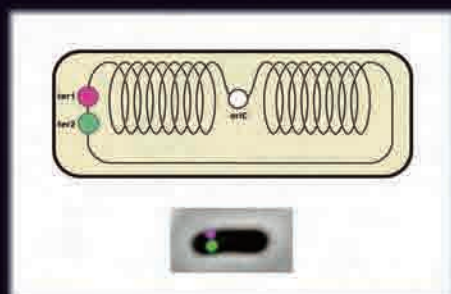
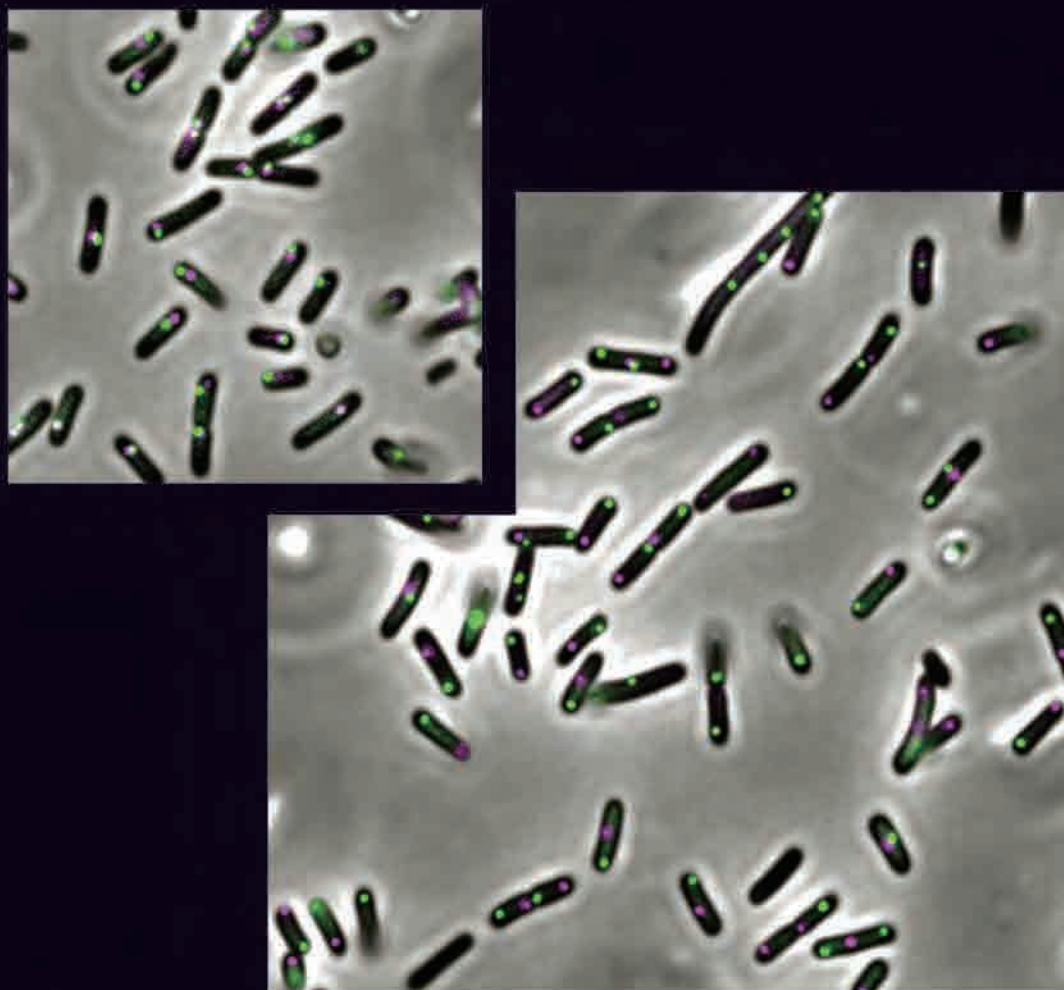


# 遺伝子増幅から遺伝子進化へ



大腸菌の環状ゲノムの線状化に成功（上図 左：線状化前 右：線状化後）  
下図は線状ゲノム末端の線状化前と後の局在性の違いを模式図で示す

ゲノムは短期間では極めて安定だが、長期間では驚くほど融通無碍に変化（進化）する。ゲノム変化の仕方を学ぶことで、性質を知り、利用もでき、さらには人工的に変えられる。今後は、ゲノムを進化させることも視野に入れるべきだ。ここでは、最もダイナミックに変化する遺伝子増幅を中心に進めている解析を紹介しよう。



教授  
堀内 高

助教  
定塚 勝樹  
渡邊 孝明

技術課技術職員  
諸岡 直樹

博士研究員  
児玉 顕一

総合研究大学院大学  
大学院生  
板津 昌子  
岡本 治子

技術支援員  
米沢 晴美

事務支援員  
石根 直美

## 遺伝子の増幅はどのように起こる？

一般的な遺伝子増幅のタイプは2種類あり、(i) リボソームRNA 遺伝子 (rDNA) タイプと (ii) がん遺伝子タイプである。前者の産物はタンデム (順位) にリPEATし、後者はインバート (逆位) にリPEATする。これまでの膨大な研究にも関わらず、どちらの増幅機構も共に最近まで謎だった。

(i) 我々は、別の興味で、酵母 rDNA リPEAT 内で起こる複製阻害現象を解析中、阻害しない変異株 (*fob1*) を分離・解析したところ、驚いたことに、野生株で起こる rDNA のコピー数の増加・減少が全く起こらずフリーズすることを発見、これを突破口に、精巧な増幅機構の存在を明らかにしてきた。また、200 回繰り返される多コピー遺伝子の維持機構も重要であろう。我々は、染色体の凝縮・分配に必須なコンデンシンが、rDNA のリPEAT 維持に必須であることを見出した (図 1 参照)。

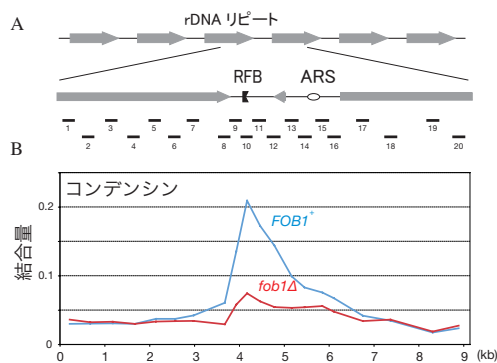


図 1. Condensin は DNA 複製時に *FOB1* に依存して RFB site に結合する

(ii) rDNA 増幅の機構解明の成功は、がん遺伝子タイプの増幅機構の解明をも促した。rDNA の増幅速度は極めて遅い。一方がん遺伝子の増幅は早かろうと、最速で遺伝子増幅が起こる系をデザインし、試みたところ、動物細胞で見られる産物と同様のものが得られた (図 2 参照)。これらの系の動物細胞での有効性を今試している。この機構解明は、がん治療やタンパク性医薬生産等へ大きなインパクトを与えよう。

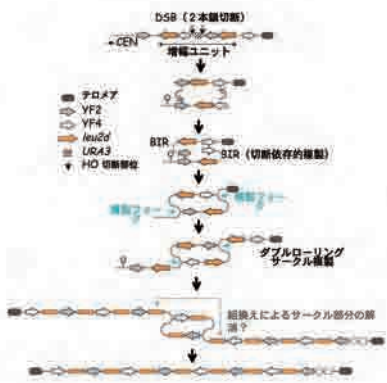


図 2. 新しい遺伝子増幅法

## 遺伝子進化は実験的に可能？

遺伝子進化は、誰にとっても興味あるテーマの一つであろう。新しい機能を有するタンパクはどのようにして生まれてくるのか？それをコードする DNA がどのように生まれてくるのか？これまでこの問題は主に理論的に議論されてきたが、今は遺伝子進化の実験を行う時代であろう。我々の視点は、遺伝子増幅である。遺伝子増幅と変異導入がカップリングすることで、多種多様な遺伝子のカタログが出来上がり、選択によりその中から適した遺伝子が生き残るのではないかとのアイデアである。細胞内での遺伝子間の生存競争と言っても良い。それに挑戦しはじめた。

## 線状ゲノムの大腸菌は生存できる？

真核生物は線状ゲノム、原核生物は環状ゲノムである。何故か？その答えは未だない。その問いに答えるために、大腸菌の環状ゲノムの線状化を試み、成功した。驚いたことに、線状ゲノム大腸菌は、ピンピンしており、環状ゲノム株と変わらなかった。しかし、線状化の場所が大事なことが分かった。つまり、複製開始点を中央に両腕の長さが同じならば、生育は正常だが、両腕の長さが違えば違うほど生育が悪くなり、限度以上では致死となる。また、線状ゲノムの両端は、分裂直後には細胞の両端にくる (左ページ図参照)。ゲノムの収縮を示唆するが、縮む原因を知りたい。自然界に線状ゲノム大腸菌がいるかもしれない。

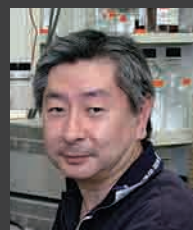
### 参考文献

1. Johzuka, K., and Horiuchi, T. (2009) The *cis*-element and factors required for condensin recruitment to chromosomes. *Mol. Cell*, in press.
2. Cui, T., Moro-oka, N., Ohsumi, K., Kodama, K., Ohshima, T., Ogasawara, N., Mori, H., Wanner, B., Niki, H., and Horiuchi, T. (2007) *E. coli* with a linear genome. *EMBO Rep* 8, 181-187.
3. 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.* 26:2226-36
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. Kobayashi, T., Horiuchi, T., Tongaonlar, T., Vu, L., Nomura, M. (2004) *SIR2* regulates recombination between different rDNA repeats, but not recombination within individual rDNA genes in Yeast. *Cell* 77, 441-453.

教授  
堀内 嵩



助教  
定塚 勝樹



助教  
渡邊 孝明

