

組換えを介したゲノム動態制御

柴田武彦 (CREST・理化学研究所 遺伝生化学研究室)

武田俊一 (京都大学医学研究科)、小川英行 (岩手女子看護短期大学)

この研究は、二本鎖切断修復などでゲノムの恒常性維持に寄与する一方、ゲノムを変化させる相同DNA組換えを介したゲノム動態制御について、遺伝子、分子機能から染色体・細胞の挙動まで総合的に理解し、高等動物を対象とする新技術の基盤構築を目指している。ここでは、(i) 相同DNA組換えの分子構造的基礎、(ii) 相同DNA組換え開始制御の染色体機構、(iii) RecA/Rad51族蛋白質の相同DNA組換えでの機能分担とその制御の理解を目指した研究から分かってきたことを発表する。

相同DNA組換えは、両親DNAに由来するヘテロ二本鎖を中間体とする。ウイルス、細菌から高等動物まで、RecA/Rad51族の蛋白質がこの形成を行う。DNA二本鎖切断端が加工されてできる一本鎖領域にRecA/Rad51族蛋白質が結合し、姉妹染色体や、相同染色体DNAの同じ塩基配列を持つ部分に働き掛け、両DNA分子に由来するヘテロ二本鎖をつくる。我々はこれまで、転移NMR法によって原子スケールの分解能で解いた大腸菌RecAや酵母Rad51への結合で誘導されるオリゴ一本鎖DNAの立体構造(1)を基に、分子構造の裏付けをもつヘテロ二本鎖形成過程の初めてのモデルを提出した(2)。RecA/Rad51に結合したDNAがもつデオキシリボース環の2'メチレン基と次位の塩基との相互作用を軸に塩基が回転できるという特性で、二本鎖DNAと一本鎖DNAとの間でヘテロ二本鎖をつくる過程が説明できる。このことは、DNA生物では相同的組換えは普遍的な現象である一方、RNA生物では相同組換えは稀で、例え起こる場合でも、一本鎖RNA同士の反応によるという事実によって支持される。合成の誤りや障害を相補鎖を鋳型として修復することで、二本鎖DNAは、大きな遺伝情報を正確に子孫へ伝える事ができる一方、相同DNA組換えで担っているゲノム情報を変える能力をもつといえる。これが、進化過程で、ゲノム情報の担体として、DNAがRNAに取って代わった理由ではないか。

相同DNA組換えは、単に、両親のそれぞれが持つ対立遺伝子群の組み合わせを変えることで遺伝的な多様性を与えるだけではない。相同DNA組換えは、似た塩基配列を持つ遺伝子の間で起こる場合でも、読み枠を揃えて起こるので、イントロンに依存せずに、一対の蛋白質間で部分の交換・置き換えでできる新しい蛋白質をコードする遺伝子を生み出す過程としても働く。このことは、試験管内遺伝子進化実験や、トリ等の相同DNA組換えによる免疫グロブリンの多様性をつくる過程で実際に示されている。

相同DNA組換えは、ある種の細菌や、酵母などで、栄養飢餓ストレスに細胞が曝されると千倍も誘導されることが示されている。このことと、相同DNA組換えの新遺伝子を生み出す機能は、相同DNA組換えが、実際に、環境変動への適応装置として機能してきたことを示唆する。

酵母では、栄養飢餓ストレスに倍数体細胞が曝されると、組換え開始のためのcis作動配列近傍に二本鎖切断が入ることで相同DNA組換えが誘導される。我々は、この二本鎖切断導入に先立つ減数分裂の初期に2種類の染色体構造の変化が、組換え開始cis作動配列の場所やその周辺で起こること、その変化と相同DNA組換え開始が深く関わっていることを見いだした。その一つは、分裂酵母のM26組換えホットスポットで見つかった大規模なクロマチンリモデリングであり、組換え開始部位でDNAへ蛋白質が接近しやすいヌクレアーゼ超感受性部位を与える(3)。他方は、分裂酵母と出芽酵母両方で見つかった、相同DNA組換え開始部位にあるヌクレアーゼ超感受性部位で局所的におこるクロマチン変位(chromatin transition)である(4)。M26ホットスポットでのクロマチンリモデリングは、飢餓ストレス応答、性決定の情報伝達経路の複合作用下で、Atf1-Pcr1転写因子のcAMP-response elementへの結合を介して誘導される。一方、クロマチン変位は、Mre11によって支配され

ている。特に、Mre11のC末端のDNA結合ドメインが、同じ蛋白質のN末端側にあるDNase機能とは独立に、このクロマチン変位に関わる(5)。更に、Mre11もまた転写因子としての機能を示唆する結果も出てきた。相同DNA組換えの開始部位での転写は相同DNA組換え開始に必要ないが、転写因子(群?)を借用し、飢餓ストレスが相同DNA組換え開始を誘導する機構の概略が見えてきた。

DNAに潜在する相同DNA組換えに働く構造を誘導するRecA/Rad51族蛋白質群のDNA結合部位の原子スケールの分解能での立体構造解析や人のRad51族蛋白質の単離から、RecA/Rad51族蛋白質群での保存性と固有性、Rad51族蛋白質群の役割分担が明らかになりつゝある。細菌は1種のRecAしかもたないが、ヒトには7種類のRad51族蛋白質がある。同じ族の蛋白質、Xrcc3とRad51Cとは安定な1:1の会合体をつくることで、Rad51よりも強いヘテロ二本鎖形成活性を持つことが見つかった。こうしたことは、ヒトでは、複数のRad51族蛋白質が役割分担を行いつゝヘテロ二本鎖形成を行っていることを示唆する。

以上述べたような、生物が環境変化に適応するためゲノム進化を行う機構として獲得してきた相同DNA組換えの開始調節の分子機構の解明と相同DNA組換えに働く原理の理解から、相同DNA組換えの人為的な制御によりゲノム進化を技術に組み込む可能性が拓かれると期待される。

参考文献

1. Nishinaka, T., Ito, Y., Yokoyama, S. & Shibata, T. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **94**, 6623-6628 (1997).
2. Nishinaka, T., Shinohara, A., Ito, Y., Yokoyama, S. & Shibata, T. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **95**, 11071-11076 (1998).
3. Mizuno, K.-i., Emura, Y., Baur, M., Kohli, J., Ohta, K. & Shibata, T. *Genes Dev.* **11**, 876-886 (1997).
4. Ohta, K., Shibata, T. & Nicolas, A. *EMBO J.* **13**, 5754-5763 (1994).
5. Furuse, M., Nagase, Y., Tsubouchi, H., Murakami-Murofushi, K., Shibata, T. & Ohta, K. *EMBO J.* **17**, 6412-6425 (1998).