

## 蛋白結合プロファイルに基づいた染色体代謝ネットワークの解析

●白髭 克彦

東京工業大学バイオ研究基盤支援総合センター

### 〈研究の目的と進め方〉

遺伝情報は多種類のDNA-タンパク相互作用により規定される染色体代謝システムにより制御されている。この代謝システムは、転写、組換え、複製、修復、分配、チェックポイント制御等のサブシステムに分類されるが、これらのサブシステムは独立ではなく、いくつかの因子を共有しネットワークを形成していると考えられている。申請者は、様々なタンパクの出芽酵母第六染色体上の結合プロファイルを高集積度オリゴDNAチップを用い、網羅的かつ詳細に解析（ChIP-chip法）する技術を確認、いくつかのサブシステムの連携例を見出し、染色体をDNA-タンパク相互作用の集積物として解析することで、代謝ネットワーク情報を有効に抽出できることを確信した。

### 〈研究開始時の研究計画〉

本申請では300種類のタンパクについて出芽酵母の特定の染色体についてDNAチップを用い、結合プロファイル情報を得、因子間の相互作用情報を結合プロファイルに基づき抽出、分類、比較可能なソフトの構築を行い、この複合データと既存のシス配列、複合体、転写情報を組み合わせることで、新しい遺伝子機能と代謝ネットワークを抽出する。将来的にはプロファイル情報を全タンパクについて得、染色体代謝システムのシミュレータの構築までを視野に入れる。

### 〈研究期間の成果〉

出芽酵母の6番染色体についてのみ解析を行い、必要に応じて、出芽酵母の全染色体を解析した。まず、結合プロファイルに基づきプロファイルデータを分類可能なソフトについてであるが、データのプレゼンテーションソフトについては開発を終了し一部公開し、さらに発展させ出芽酵母、分裂酵母の全ゲノムについても解析可能なソフトを構築しつつある。公開したものについては月平均のアクセス数が100件を上回っており、同じプラットフォームを有する研究者との間で共有できるシステムとなっており、また、システムを利用した論文（基本的に我々は著者に含まれていない）の発表も開始されている。このことは我々が構築したソフトが世界的にスタンダードになりつつあることを意味している。比較、分類ソフトについてはプロトタイプ版が完成し、プロファイルの類似性から、1) コヒーシスが転写により局在を変える事で転写装置と棲み分けている事を明らかにした（*nature*,2004）、2) コヒーシン蛋白を新たな修復因子として同定できた（*Mol. Cell*, 2004）、3) Spo13を新たなコヒーシン制御因子として同定した（*current biology*, 2004）、4) 減数分裂特異的コヒーシンの制御因子の同定（*Nature*, 2006）、5) 減数分裂時の複製と組換えの連携等、コヒーシン蛋白のダイナミクスを中心として次々と新たな発見を行った。

### 〈国内外での成果の位置づけ〉

当該技術を用いた染色体動態の研究分野では世界でトッ

プクラスの研究を維持し続けている。残念ながら、国内では評価されていないようであるが、国外では海外の著名研究室といくつも共同研究を行い、目覚ましい成果を積み重ねてきた。それは論文の質、さらに、掲載論文のほぼ全てが（*nature*に掲載されたものでなくても）、*nature*誌のnews and viewsで紹介されたという事実が示している。また、技術面の優秀さが認められた結果、*Methods In Enzymology* 誌にプロトコルを招待投稿した。ジュネーブ大学、オックスフォード大学、カロリンスカ研究所等のマイクロアレイ研究所が我々のシステムをそのまま使い、独自の研究を進展させていることも付記しておく。

### 〈達成できなかったこと、予想外の困難、その理由〉

当初よりも予算がかなりかさんだため、300種類のタンパクという数値目標はこなせなかった。そこで、データ件数を増やすために海外との共同研究を多数行わざるを得ない結果となったが、結果的には十分新しい発見をいくつも行うことができた。

### 〈今後の課題〉

全ゲノムの解析へ研究を展開するにあたって、チップの情報処理の効率化が一番問題となる。また、海外との競争の中で何とか先発グループとしての我々の優位性を保てるか否かが不安である。

### 〈研究期間の全成果公表リスト〉

- 1) 論文／プロシーディング
- 1) A. Lengronne, Y. Katou, S. Mori, S. Yokobayashi, G. Kelly, T. Itoh, Y. Watanabe, K. Shirahige\*, and F. Uhlmann\* (\*equally contributed author): Cohesin relocation from sites of chromosomal loading to places of convergent transcriptions. *Nature*, 430, 573-578 (2004)
- 2) L. Strom, H. B. Lindroos, K. Shirahige, and C. Sjögren: Postreplicative recruitment of Cohesin to double-strand breaks is required for DNA repair. *Mol. Cell*, 16, 1003-1015 (2004)
- 3) V. L. Katis, J. Matos, S. Mori, K. Shirahige, W. Zachariae, and K. Nasmyth: Spo13 Facilitates Monopolin Recruitment to Kinetochores and Regulates Maintenance of Centromeric Cohesion during Yeast Meiosis. *Curr Biol.*, 14, 2183-2196 (2004)
- 4) Y. Tonami, H. Murakami, K. Shirahige, and M. Nakanishi. A checkpoint control linking meiotic S phase and recombination initiation in fission yeast. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 102, 5797-801 (2005)

C.G. Riedel, V. L. Katis, Y. Katou, S. Mori, W. Helmhart, M. Gálková, M. Petronczki, J. Gregan, B. Cetin, I. Mudrak, E. Ogris, K. Mechtler, L. Pelletier, F. Buchholz, K. Shirahige and K. Nasmyth: Protein Phosphatase 2A protects centromeric sister chromatid cohesion. *Nature*, (2006) in press