

バクテリア環状ゲノム構造の構築原理の解明

●仁木 宏典

国立遺伝学研究所放射線・アイソトープセンター

〈研究の目的と進め方〉

多くのバクテリアで全ゲノム配列が解読され、遺伝子の並びやその方向、またシスに機能する領域などの全体像が明らかになってきた。本研究では、進化の過程で最適化されてきた原核細胞の環状染色体の構築に関わる原理を見だし、その細胞長の1000倍もの長さを持ちながらバクテリア細胞内に納められている核様体の仕組みを解き明かしたい。染色体分断法という一種の染色体工学的手法とバクテリアの染色体、すなわち、核様体の形態を生きたまま細胞内で明瞭に観察できる方法を組み合わせ、染色体の折り畳みの動態を解析する。

〈研究開始時の研究計画〉

バクテリアの核様体形成にかかわる要因として、染色体の全体構造そのもの、あるいは細胞増殖の様式、さらに局所的な染色体配列等がどのように影響するか明かにする。

(1) バクテリア・セントロメア様領域の位置効果

染色体の複製輝点(oriC)の近傍に、私達が見出した染色体分配のシス機能領域は位置する。このために、oriCが効率よく両極へ移動するものと考えられる。また、移動のタイミングは複製と共役しているものと予想される。このシス領域を染色体の別の位置に移して染色体分配への影響を調べる。

(2) 細胞周期による核様体の形態変化

生細胞での核様体の形態を観察し、細胞周期によるその形態の変化をあきらかにし細胞活動との関連を見る。特に、マルチフォーク複製期には複雑な形態の変化を認めており、複製と核様体形態の関係を明らかにする。

(3) 組換えに及ぼす染色体上の位置と複製の影響

環状のバクテリア染色体でoriCと複製終点(ter)は180度対称に位置し、細胞内でもそれぞれ相対する局在性を示す。したがって、これらを染色体領域間では組み換え反応が低下していることが考えられる。この妥当性を見るとともに、両方向複製機構の複製ファクターによる染色体領域間の組み換え反応の促進について調べる。

〈研究期間の成果〉

染色体分配のシス領域、migSによる染色体の移動を生細胞内で可視化するシステムを導入した。

- (1) migSを染色体終点領域に移すと、この部分が両極移動し、一方、複製起点領域は細胞中央部に留まったままになっていることを生細胞内の連続観察から示すことができた。
- (2) 細胞内の核様体のサブドメイン構造に一致して、複製起点領域が位置していることを示し、migS欠失株ではこのサブドメイン構造が見られなくなり、複製起点領域の分離に遅れがあることを明らかにした。
- (3) 染色体の終点領域と複製起点の逆位変異株を作成し、終点領域側の逆位の点が、dif配列に近いと逆位の

頻度が下がることを明かにした。これは終点領域に
ならかの染色体ドメインの境界があることを示唆し
ている。

〈国内外での成果の位置づけ〉

染色体複製後の、両極移動に関わる配列を初めて明らかにし、これが実際に染色体の移動に関与していることを生細胞内で明らかにしたのは内外で随一であり、新しい染色体分配の動態の解析の材料として期待できる。

〈達成できなかったこと、予想外の困難、その理由〉

細胞周期による核様体の形態変化に関して、染色体動態と複製関連タンパク質の視覚観察用のマーカーを持つ変異株の作成がおくれた。染色体動態観察のための蛍光マーカーの発現が細胞の成育に影響し、これが問題となった。

〈今後の課題〉

細胞の成育に影響しない蛍光マーカーの発現系を創出することができた。これをより広範囲に使えるように改良し、染色体の上の特定領域の動態と複製・分配関連タンパク質の細胞内局在の関係についてさらに研究を深める。

〈研究期間の全成果公表リスト〉

403011521

Ymaichi,y,and Niki,H.,migS,a cis-acting sit that affects bipolar positioning of oriC on the Escherichia coli chromosome,EMBO J.,23,221-233