

染色体改変変異株による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〉

ゲノム解析からバクテリアの細胞の完全解明が試みられている。しかし、コードされた遺伝子の機能の解析だけでは解明できない課題もまだ多い。遺伝子の並びやその方向、またシス位に機能する領域などゲノム構造は長い進化の過程で最適化され現在の姿に至ったと考えられる。また、環状の染色体は単なる大きなプラスミドとは異なり細胞内では核様体と呼ばれる高次構造を取ることから、この高次構造の形成に必要な情報をゲノム中に持っているはずである。しかしながら、塩基配列からそのような機能領域をゲノム中に見つけだすことは難しい。本研究では大腸菌の染色体を系統的に分断化したり逆位を導入したり、積極的に改変し、染色体レベルの変異により細胞増殖や染色体構造そのものがどのように影響されるか調べる。そして原核細胞染色体の構築原理を見だし染色体構築の仕組みを解き明かす。

〈研究開始時の研究計画〉

遺伝子や非遺伝子配列の配置が細胞増殖に及ぼす影響、核様体の構造とその構築に必要な染色体領域の探索の2点を中心に研究を進める。

- 1) 染色体分配時にシスに機能する染色体領域を同定し、その機能と染色体上の位置の関係について調べ、複製と分配の同調機構を明らかにする。
- 2) 複製起点 (oriC) と複製終点領域 (Ter) の間で組換えを行い、GC Skewの対称的な大腸菌染色体を非対称に変える。このような変異株に方向性の複製起点を導入する。複製フォークがGC Skewと同方向・逆方向で増殖がどうなるか調べる。また、非対称染色体がどのような染色体分配様式を示すのか調べる。
- 3) 分断法によって作成した第2染色体の高次構造を調べるため、染色体凝縮因子であるSeqA, MukBタンパクが正常にこれらミニ染色体にロードされるかこれらタンパクの細胞内局在性を調べる。

〈研究期間の成果〉

- 1) 一連の染色体分断変異株、染色体欠失変異株の作成と解析を進め、染色体上の複製開始点領域の両方向への移動に関与する領域として最終的に25bpの配列を特定した。この配列を染色体の複製開始点と終点の軸に対して対称な位置に移した。この株では正常に複製開始点領域が両極へ移動した。
- 2) 染色体改変株の作成が進まず、増殖と染色体分配様式についてまだ調べられていない。
- 3) 染色体分断変異株では、分断した染色体と思われるミニ核様体が観察される。SeqA-GFPタンパク質の細胞内局在をこの変異株でみたところ、ミニ核様体においてもGFPの蛍光シグナルが認められた。このことから、SeqAが細胞の特定の位置に局在しているのではなく、染色体が特定の位置に局在するためSeqAは細胞内で規則的な分布をするものと考えられる。
- 4) 生細胞内で蛍光色素などを使わず、バクテリアの染色

体を観察する方法を用い、細胞内の核様体の形態や細胞分裂周期に応じた形態の変化を明らかにした。増殖速度により細胞内での核様体の形態は著しく異なり、富栄養条件下では凝縮した核様体で、反対に貧栄養条件下では細胞内により広がった形態となっている。

〈国内外での成果の位置づけ〉

これまでバクテリアの染色体には分配時の染色体移動に関わる領域があるのではないかと予想されその特定が試みられてきたがゲノム配列が決定した後も長らく不明であった。この配列を決めたことで、さらに染色体関連因子の探索が可能となる。

生細胞内で染色体を観察する方法は、可能なようで実際は非常に困難でありほとんど試みられたことない。これが簡便な方法で実現でき、バクテリアの染色体関連の研究をする上で非常に有用である。この方法を学会で紹介したところ内外の第一線のバクテリアの研究者が興味を持った。

〈達成できなかったこと、予想外の困難、その理由〉

生細胞内の観察方法をさらに蛍光観察と組み合わせ、さらに詳細な染色体の移動解析を行う必要があるが、退色などの技術的な問題が克服できなかった。

〈今後の課題〉

生細胞内で染色体を観察する方法は染色体構造の解明に非常に有効な方法であるので、染色体改変変異株を次々と作成し本観察方法で調べていく。また、この方法に蛍光観察方法を組み合わせるとより多くの情報が細胞観察から得られると期待される。

〈研究期間の全成果公表リスト〉

T.Inagawa,J.Kato,H.Niki,K.Karata,T.Ogura:Defective plasmid partition in ftsH mutants of Escherichia coli.Molecular Genetics and Genomics 265,755-762,2001