

バクテリアparAB分配遺伝子の多様性と分配の基本分子機構の研究

●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〉

バクテリアでは染色体外因子の上に、これら染色体外因子を娘細胞へと伝えるための分配機構が見つまっている。この分配機構には2つのタンパクをコードする遺伝子とこれらのタンパクが作用するDNA部位、いわばセントロメアに相当する遺伝子が必要である。さらに、これらの遺伝子は一つのオペロンを構成している場合が多い。この分配遺伝子の働きにより、プラスミドなどの染色体外因子は細胞の中央部に局在化されていたものが細胞長の1/4と3/4の部位にわかれる。この局在化のためには分配複合体が宿主側の因子に結合しているものと考えられるがいまだよくわかってない。ゲノムの研究の進展から、この分配遺伝子と相同性を持つものがバクテリアで見つかった。プラスミドの分配機構を明らかにするために新たに見つかった遺伝子をその配列から検討した。

〈研究開始時の研究計画〉

原核細胞のゲノムや染色体外因子の塩基配列の中に、Fプラスミドの分配遺伝子の相同遺伝子を検索し、機能モチーフを明らかにする。

〈研究期間の成果〉

それぞれに50以上のホモログが見つかりこれらのファミリーをParAとParBとした。アミノ酸配列によるタンパクの系統樹ではParABとも2つに別れ、ゲノムに由来し比較的保存性が高いグループと染色体外因子に由来し配列の多様性が著しいグループであった。保存性の高い分配機構が種を超えて働きうるか実証するため*Bacillus subtilis*の分配遺伝子soj-spoOJ-parSが*Escherichia coli*においてプラスミド分配遺伝子として機能するか調べた。世代あたりのプラスミド保持率と細胞内での局在化の両点から*B.subtilis*の分配遺伝子が*E.coli*でも機能すると結論した。parAB分配遺伝子は染色体からプラスミドやファージに移ることでこの染色体外因子があたらしい宿主で安定保持されやすいだろう。これは種間でも機能しプラスミドやファージのバクテリア間での伝播に寄与したと考えられる。グラム陰性と陽性のバクテリア間でも機能することから、分配の宿主因子はそれぞれの種に今も共通に保存されていると考えられる。

〈国内外での成果の位置づけ〉

分配遺伝子の変異により、プラスミドの局在性が異なっていることを初めて明らかにし、分配遺伝子の細胞内での役割について新しい知見をもたらした。

〈達成できなかったこと、予想外の困難、その理由〉

他のバクテリア染色体由来のparABC遺伝子が必ずしも大腸菌内でプラスミド分配活性を示さなかった。これは単に遺伝子発現の問題もあるので、遺伝子発現を大腸菌の中で制御しながら分配活性を調べる必要がある。また、分配のシス機能部位に関しては全くといっていいほど共通する配列はなく、ただparB遺伝子下流に位置すると

いう大腸菌の染色体外因子で見出されてきた特徴をもとに想定して調べているに過ぎない。そのため、分配のシス機能部位を同定する方法を開発する必要である。

宿主因子の探索は準備がすすまず、計画が遂行できなかった。あらたにバクテリアでのTwo Hybridシステムが開発されており、これは本研究に有効であると考えられる。これを導入して本格的な探索を進めたい。

〈今後の課題〉

プラスミド分配の宿主因子の探索は長年多くの研究者が試みてきた課題である。より新たな実験技術を導入して因子の発見につなげたい。また、分配機構の解明にはDNAの動きとParABタンパク質の細胞内同時観察が必須と思われる。GFPタンパク質を使いこれを実現したいと思う。

〈研究期間の全成果公表リスト〉

Yamaichi,Y.,and Niki,H.(2000) Active segregation by the *Bacillus subtilis* partitioning system in *Escherichia coli*. *Proc.Natl.Acad.Aci.*97: 14656-14661