

ゲノムの可塑性とレトロトランスポゾンの関係—実験モデル系による検証

●山田 隆 ◆藤江 誠

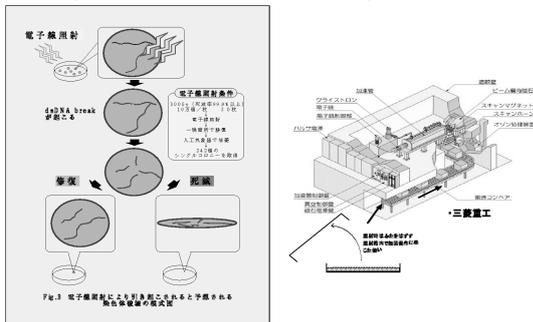
広島大学大学院先端物質科学研究科

〈研究の目的と進め方〉

ゲノムのC値パラドックスの主因の一つである、高度反復配列レトロ因子のゲノム上での分布動態やその活性化、増殖、生物学的重要性について、実験モデル系を用いて解析する。分子構造解析の進んでいる単細胞緑藻クロレラの染色体に人為的傷害を誘導し、特定レトロ因子の挙動を分子レベルで追跡する。これにより、(1) 染色体高次構造変化、(2) DNA再編成、(3) 遺伝子変換、(4) 染色体修復・保護におけるレトロ因子の役割などを実証する。

〈研究開始時の研究計画〉

既に染色体分子核型を確定し、第一番染色体について contig 及び遺伝子マップを作製済みのクロレラ株 (*Chlorella vulgaris* C-169) を研究対象として、リニア型電子線照射装置を用いて種々の条件で細胞に電子線を照射し、染色体をランダムに切断する。照射後、生育細胞単一コロニーについて染色体の核型解析、第一番染色体のマップ解析、トランスポゾンについてのサザン解析を行い、ゲノム再編成と Zepp, SINE の相関性について精査する (実験スキームを下図に示す)。



〈研究期間の成果〉

電子線照射系によって、計12種のクロレラミニ染色体(300-800kbp)形成を誘発した。そのうち、Y32ミニ染色体(380kbp)の末端構造解析を行った。この染色体の右末端4.1kbpには、少なくとも3コピーのLINE型レトロトランスポゾンZepp (Zepp-1, Zepp-2, Zepp-3)が新たに付加されており (タンデム型)、最末端コピー (Zepp-3) の約400bp部分がテロメア配列と置き換わっていた。この構造は、先に第一番染色体末端に見出されたZeppクラスター (EMBO J, 16, 630-639, 1997, Nucl Acids Res.26,3900-3907,1998) と酷似しており、染色体切断点におけるZeppの順次転移による修復を示唆している。さらに、第一番染色体由来ミニ染色体P7 (800kbp)の詳細な構造解析を行ったところ、切断点にSINE因子が発見された。このレトロ因子は、全染色体上に多数分散しており、DNA再編成における重要性が示唆された。

〈国内外での成果の位置づけ〉

内外の反響：本研究の論文発表後、多くの海外研究者から実験系、方法についての問い合わせ及び情報交換の問い合わせがあった。さらに、米国ネブラスカ大学Dr.Jim

Van Ettenとの共同研究でクロレラゲノムプロジェクト (DOE Project)申請が採択され、現在進行中である(2005-)。レトロトランスポゾンのゲノム構造構築、ゲノム修復、ゲノム進化、における役割の統合的な理解につながる知見が得られると期待される。

〈達成できなかったこと、予想外の困難、その理由〉

2000年度公募研究で採択され所定の成果を得た。さらなる発展を期して次年度以降も応募したが、残念ながら不採択となり研究が大きく遅れた。この間類似の系が幾つかPNAS等に発表されこの遅れが遺憾である。

〈今後の課題〉

米国DOEプロジェクト推進とともに染色体工学のテーマで科研費特定新領域に申請しさらなる展開を図る。

〈研究期間の全成果公表リスト〉

発表論文

1. Yamamoto, Y., Noutoshi, Y., Fujie, M., Usami, S., and Yamada, T. (2000) Analysis of double-strand-break repair by *Chlorella* retrotransposon Zepp. *Nucleic Acids Symp. Ser.* 44, 101-102.
2. Maki, S., Ohta, Y., Noutoshi, Y., Fujie, M., Usami, S., and Yamada, T. (2000) Mapping of cDNA clones on the contig of *Chlorella* chromosome I. *J. Biosci. Bioeng.*, 90, 431-436.
3. Yamamoto, Y., Fujimoto, Y., Arai, R., Fujie, M., Usami, S., and Yamada, T. (2003) Retrotransposon-mediated restoration of *Chlorella* telomeres: accumulation of Zepp retrotransposons at termini of newly formed minichromosomes. *Nucleic Acids Res.*, 31,4646-4653.
4. Yamada, T., Fujimoto, Y., Yamamoto, Y., Machida, K., Oda, M., Fujie, M., and Usami, S. (2003) Minichromosome formation in *Chlorella* cells irradiated with electron beams. *J. Biosci. Bioeng.*, 95, 601-607.
5. 山田 隆 (2003) 染色体工学、化学便覧応用化学編第6版、日本化学会編、丸善1545-1548. 学会発表

6. 山本克卓、能年義輝、金谷新作、小田峰裕、藤江誠、山田隆：電子線照射によるミニ染色体誘導レトロトランスポゾンの関与。2000年度日本農芸化学会大会、2H043, 3月、東京
7. 山本克卓、能年義輝、藤江誠、宇佐美昭二、山田隆：電子線照射により生じたクロレラミニ染色体の分子解析。平成12年度日本生物工学会大会138, 8月、札幌
8. 山田隆：次世代型形質転換ベクター (シャトルYAC) の開発に関する研究。

平成12年度日本生物工学会大会シンポジウム2S22,

8月、札幌

9. 山本克卓、能年義輝、藤江誠、宇佐美昭二、山田隆：クロレラレトロトランスポゾンZeppによる染色体切断修復。2000年核酸化学シンポジウム,11月、岡山