

DNA はいかにして分配されていくのか？

- バクテリアのセントロメアを求めて -

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)

1. 研究のねらい

バクテリアの染色体は複製しながら娘細胞へと分配されていく。かつて、その移動は細胞伸長に因るものと考えられてきた。しかし、我々は分配過程の大腸菌染色体の特定領域の観察から、細胞伸長に因らない動的な染色体の移動があることを見出した。染色体の複製起点 (oriC) は細胞中央で複製し、それぞれのコピーは両極へ移動する。ではこのoriC領域の両極への移動の仕組みはどうなっているのか、oriC 近傍にはセントロメアに相当する部位があるのか？ 本研究では、バクテリアの染色体分配の分子機構の解明を目指した。

2. 研究結果及び自己評価

原核細胞において、染色体分配の研究が立ち遅れていた一因はその細胞が小さいことにあった。近年の光学顕微鏡とこれに伴う画像解析技術の発展により、数 μm というバクテリア細胞でも、十分に細胞学的研究方法が行えるようになった。その一つが蛍光in situハイブリダイゼーション (FISH) 法である。我々はこの方法により、プラスミドDNAや大腸菌染色体の特定領域の検出に成功し、分配過程におけるDNA局在性の変化を観察してきた。

この方法によって明らかになったことは、大腸菌染色体の特定の領域が、分配の進行に伴い細胞内での位置を大きく変えるということであった。環状の大腸菌染色体は、一ヶ所の複製開始点 (oriC) から両方向へと複製を始め、oriCのちょうど反対に位置する領域で、2つの複製フォークは出会い、複製を終了する。このため、この染色体部分は複製終結領域 (Ter) という。oriC領域とTer領域について、その細胞内の位置を調べたところ、両者はまったく異なる移動と局在のパターンを示した。複製後に倍化したoriC領域は、細胞の両極にそれぞれ分かれ、細胞が分裂するまでこの位置に留まる。一方、Ter領域は細胞中央部に移動し、細胞分裂中の大半の期間はここに位置し、最終的に複製した染色体はそれぞれ娘細胞へと分離していく。

さて、それでは他の染色体領域はどのように複製・分配されているのだろうか。本研究では、全長 4.6 Mb の大腸菌染色体上で約 230 kb 間隔の 22ヶ所の領域について、それぞれ細胞内での移動と局在を調べた。その結果、oriC領域を含む約 1 Mb に渡る染色体領域がoriC領域とほぼ同じ移動と局在性のパターンを示した。他方、Terを含む約 1 Mb もTer領域に特徴的な移動と局在性を示した。この結果から、細胞長の千倍もの長さを持つ染色体が細胞の中で遺伝子の並びに従って折りたたまれ、この高次構造によってoriC領域とTer領域に代表される局在性を示す染色体領域 (ドメイン) を形成していると考えられる。そこで両染色体ドメインをそれぞれOriドメインとTerのドメインと呼ぶ。染色体の逆位によりOriとTerのドメインが接近した変異株の解析からも両染色体ドメインが染色体の移動と局在に深く関与していることが示唆された。特に、Oriドメインには、この染色体領域を複製後に両極へ移動させるのに必要なDNA領域、いわゆるセントロメアに相当する領域が存在していると予想された。その領域を特定するため、染色体を2つに分断した変異株を作成し、その染色体分配を調べた。

染色体上からセントロメアに相当する領域を切り離すと、その染色体の分配には異常が生じるであろう。しかし、切り離した染色体領域を第2の染色体として細胞内に保持させれば、この領域にある増殖に必須な遺伝子を失うことはない。このような方法で、Oriドメインの染色体領域を次々と切り出し、種々の染色体分断変異株を作成したところ、特定の染色体領域を失った変異株に、染色体分配の異常が見つかった。これら変異株では、複製後も倍化したoriC領域が両極へ移動せず、それぞれが近接している細胞の割合が高まっていた。これはoriC領域の両極への"速やかな"移動過程が阻害されたためと考えられる。

しかし、まだその染色体領域の限定は約 220 kb の広範囲な領域であり、さらに狭い範囲にある機能配列を特定しなければならない。近い将来のこの解明をもって、真に本研究課題の終了としたい。

自己評価

大腸菌の染色体を FISH 法で検出し、細胞周期における染色体全体の変化を初めて示すことができた。さらに染色体分断変異株の作成を試み、これに成功したことで、バクテリアのセントロメアという

べき分配に関与する DNA 領域の存在を示すことができた。本研究期間内でこの領域を特定するまでに至らなかったことは残念である。が、終了後も研究を行い、この DNA 領域の塩基配列を決定することができ、本研究の最大目標を達成できた。

3 . 領域総括の見解

大腸菌における染色体配分について、FISH 法によりその複製開始点と終結点の動きを可視化することにより、これまで想像の域を出なかった細菌染色体の動きを具体的に示したことが評価される。また複製開始点として働く DNA 領域の限定にある程度の成功している。真核生物の DNA 分配機構との対比が可能となれば、相互の違いに着目した新しい抗菌剤の開発につながる可能性がある。

4 . 主な論文

- 1 . Inagawa, T., Kato, J., Niki, H., Karata, K., and Ogura, T. (2001). Defective plasmid partition in *ftsH* mutants of *Escherichia coli*. *Mol. Gen. Genomics* 265, 755-762.
- 2 . Yamaichi, Y., and Niki, H. (2000). Active segregation by the *Bacillus subtilis* partitioning system in *Escherichia coli*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 97, 14656 - 14661.
- 3 . Niki, H., Yamaichi, Y., and Hiraga, S. (2000). Dynamic organization of chromosomal DNA in *Escherichia coli*. *Genes Dev.* 14, 212 - 223.
- 4 . Hiraga, S., Ichinose, C., Onogi, T., Niki, H., and Yamazoe, M. (2000). Bidirectional migration of SeqA-bound hemimethylated DNA clusters and pairing of *oriC* copies in *Escherichia coli*. *Genes Cells* 5, 327-431.
- 5 . Niki, H., and Hiraga, S. (1999). Subcellular localization of plasmids containing the *oriC* region of *Escherichia coli* chromosome, with or without the *sopABC* partitioning system. *Mol. Microbiol.* 34, 498 - 503.