

2008年11月18日
独立行政法人 理化学研究所

ゲノムに変化をもたらす新たな DNA 組換えの抑制機構を解明

- 進化をもたらす遺伝情報の多様化と現状維持の分岐を制御 -

ヒトをはじめとする生物は、生命の設計図となっているゲノムを変化させ、発展・進化しながら、繁栄を続けています。この躍動する生命の根幹となっているのは、環境の変化など、さまざまな要因により絶えず起こる遺伝情報の書き換えです。その要因の1つが「DNA 組換え」で、新たな遺伝情報を獲得し生存を有利に導こうとします。

しかし、この DNA 組換えには、生命が破滅する危険も伴います。細胞死やがん化、老化などがその代表例です。このため、生物はこの危機を回避するさまざまな機能も備えています。

放射光科学総合研究センター放射光システム生物学研究グループらは、進化の起源に近いとされている高度好熱菌サーマス・サーモフィラスを活用して、DNA 組換え反応の初期の中間体を好んで切断する酵素「MutS2」を同定するとともに、新規の DNA 組換え抑制機構を明らかにしました。発見した抑制機構は、遺伝情報を安定化させるもので、生命の進化か危険回避かの生命の重要な選択を制御していると考えられます。

高度好熱菌は、あらゆる生物に共通したタンパク質を約 500 種類持っており、これらの機能を解明できると、ヒトを含めた高等生物の生命現象の理解につながり、生命の進化はもとより、病気のリスクの回避などに重要な知見を得ることが期待できます。

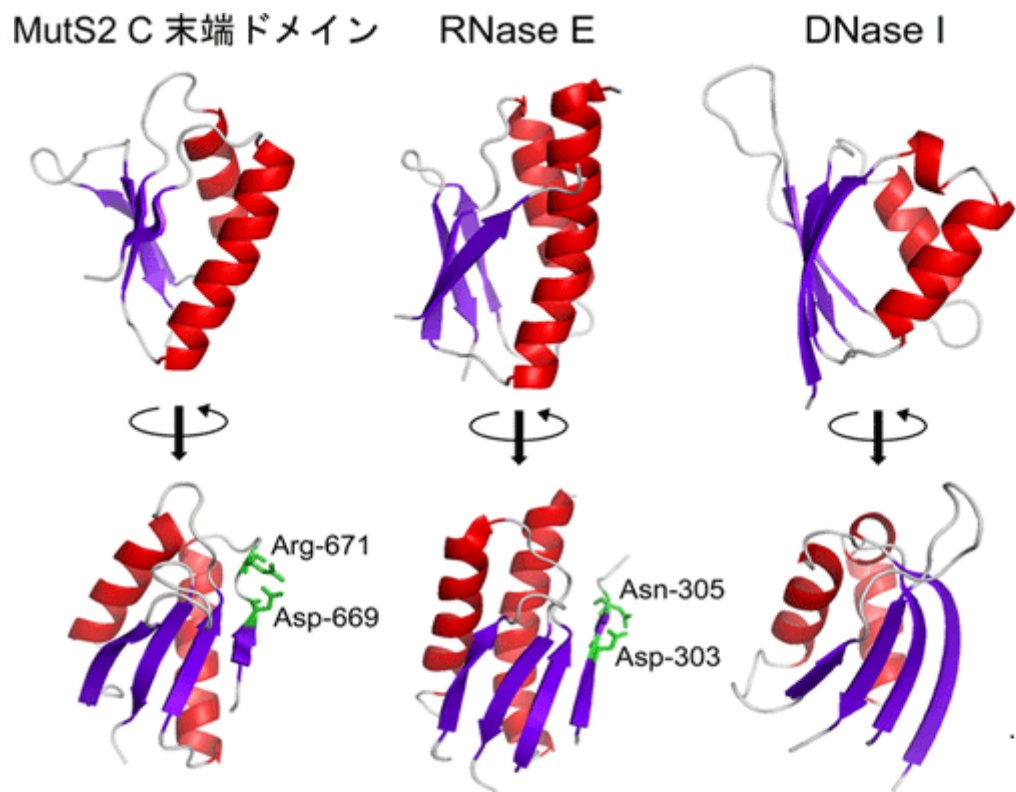
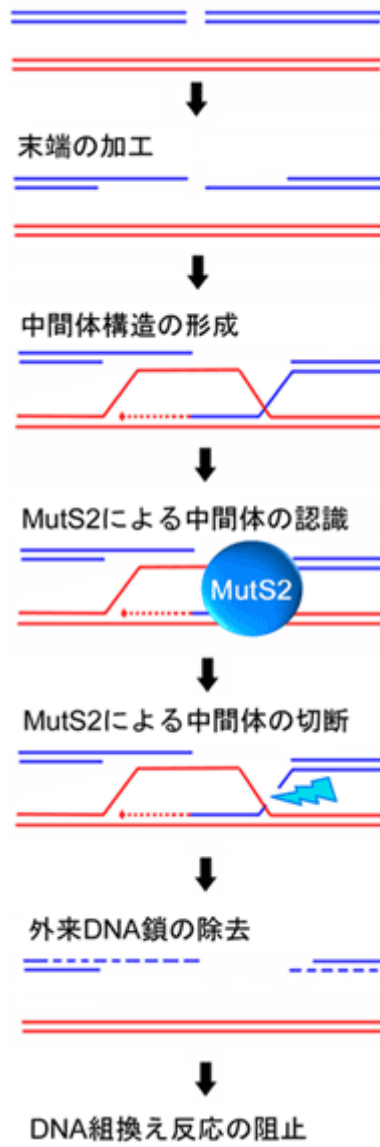


図 MutS2 の末端ドメインとRNA/DNA分解酵素組
 触媒換ドメインの立体構造(右上) MutS2による
 DNA組換え反応の抑制モデル(左下)



2008年11月18日
独立行政法人 理化学研究所

ゲノムに変化をもたらす新たな DNA 組換えの抑制機構を解明

- 進化をもたらす遺伝情報の多様化と現状維持の分岐を制御 -

◇ポイント◇

- DNA 組換えを抑制する新規 DNA 切断酵素「MutS2」を同定、構造と機能を解析
- 組換え反応の初期に中間体の切断で DNA 組換えを抑制
- 生命の進化や病気のリスク回避など、生命の重要な選択を解く鍵を得る

独立行政法人理化学研究所（野依良治理事長）は、85℃という高温で生育し、進化の起源に近いと考えられる高度好熱菌サーマス・サーモフィラス^{*1}を利用して、生命現象の根幹であるDNA組換え反応^{*2}の初期の中間体構造を好んで切断する酵素を同定し、新規のDNA組換え抑制機構を明らかにしました。この機構は、ゲノム情報（遺伝情報）の安定化に寄与するもので、進化か危機回避かの生命の重要な選択を制御すると考えられます。これは、理研放射光科学総合研究センター（石川哲也センター長）放射光システム生物学研究グループの福井健二研究員、北村吉章リサーチアシスタント、倉光成紀グループディレクターらが「高度好熱菌丸ごと一匹プロジェクト^{*3}」で行った研究成果です。

生命の遺伝情報はDNAに書き込まれており、これが書き換えられることは進化の原動力となる一方で、細胞死やがん化の危険性を伴います。遺伝情報書き換えの要因の1つは、一方のDNAの情報と他方のDNAの情報を交換する「DNA組換え反応」です。研究グループは、サーマス・サーモフィラスの機能未知タンパク質「MutS2」が、細胞内でDNA組換え反応を抑制する働きをしていることを明らかにし、その立体構造を大型放射光施設 SPring-8^{*4}を用いて決定しました。さらに、分子機能解析によって、MutS2 タンパク質が組換え反応の初期に生じる中間体を切断することで、DNA組換え反応を抑制することを見いだしました。遺伝情報を更新して進化の可能性を探るのか、現状を維持するのか、生命にとって重要な選択をコントロールするのが、MutS2 タンパク質であると考えられます。

本研究成果は、米国の科学雑誌『*Journal of Biological Chemistry*』（11月28日号）に掲載されるに先立ち、オンライン版（11月21日付け）に掲載されます。

1. 背景

研究グループは、タンパク質をはじめとする生体分子の立体構造と機能に基づいて、1つの細胞におけるすべての生命現象を、システム全体として理解しようと研究を展開しています。1999年には「高度好熱菌丸ごと一匹プロジェクト」を立ち上げ、(1) 遺伝子数が約2,200と少ない（ヒトは約23,000個、大腸菌は約4,500個）(2) 厳しい環境に生きているためタンパク質が丈夫 (3) 遺伝子を操作する方法が確立されている、などの特徴から、モデル生物として、85℃という極限環境で生育できる高度好熱菌サーマス・サーモフィラス HB8 株を選びました。サーマス・

サーモフィラス HB8 株は、あらゆる生物に共通して存在しいまだに役割がわからない約 500 種類のタンパク質を持っています。従って、これらのタンパク質の機能を明らかにすることは、サーマス・サーモフィラス HB8 株細胞内のすべての生命現象をシステム全体として理解するために欠かせないだけでなく、ヒト由来タンパク質のように、解析が困難なタンパク質の機能の理解につながることであります。

生命の遺伝情報は DNA に書き込まれており、これが書き換えられることは進化の原動力となる一方で、細胞死や老化、がん化の危険性を伴います。従って、細胞内の DNA は、さまざまな要因により絶えず書き換えの機会を得ると同時に、書き換えを防ぐ多様な機構を備えています。遺伝情報の書き換えの要因の 1 つは、一方の DNA の情報と他方の DNA の情報を入れ換える「DNA 組換え」と呼ばれる反応です。この反応は、細菌においては外来 DNA の取り込みによる新しい薬剤耐性遺伝子の獲得、ヒトにおいては減数分裂期（精子や卵などの生殖細胞ができるときに起きる細胞の分裂期）の相同染色体（2 個ずつ対になっている同形同大の染色体）の入れ換えなど、遺伝情報の多様化になくってはならないものですが、同時に、細胞死やがん化の危険性を伴うため、厳密に制御される必要があります。

研究グループは、サーマス・サーモフィラス HB8 株の機能未知のタンパク質に注目し、X 線結晶構造解析および生化学的手法を用いて、DNA 組換え制御機構の解析を行いました。

2. 研究手法と成果

(1) 新たな DNA 組換え抑制酵素「MutS2 タンパク質」を同定

細菌が、組換え反応により外来の DNA を自身のゲノムに取り込むと、薬剤に対する耐性を獲得します。従って、薬剤耐性株の出現率を調べると、DNA 組換え反応の効率がわかります。研究グループは、この方法を用いて、サーマス・サーモフィラス HB8 株由来の *mutS2* 遺伝子欠損株と、野生株の組換え反応の効率を比較しました。*mutS2* 遺伝子欠損株は、野生株より高い組換え効率を示し、機能未知のタンパク質 MutS2 が細胞内で DNA 組換えを抑制していることが明らかになりました（図 1）。このタンパク質は、それまで知られていた DNA 組換え抑制酵素が持つアミノ酸配列と似ていなかったため、新たな組換え抑制機構の酵素として働くと考えました。

(2) 原子レベルの分解能で MutS2 タンパク質をイメージング

SPring-8 の理研ビームライン BL26B2 を用いて、MutS2 タンパク質の X 線結晶構造を解析しました。その結果、MutS2 タンパク質の部分構造は、既知の DNA/RNA 切断酵素と非常によく似ていることが判明しました（図 2）。さらに、生化学的な手法を用いて MutS2 タンパク質による DNA の切断活性を調べたところ、MutS2 タンパク質は、2 本鎖 DNA、特に DNA 組換え反応における初期の中間体構造を好んで切断しました（図 3）。これらの結果から、MutS2 タンパク質が、反応の中間体を切断するという、これまで知られていなかった直接的で新規な組換え抑制機構（図 4）を見いだしたことであります。

DNA 組換えによってもたらされるゲノムの変化は、進化の原動力となりますが、

それは同時に細胞死やがん化など生命の危機を伴うものです。DNAを組換えて新たな遺伝情報を獲得して進化するのか、それとも現状を維持して生き延びるのか、生命にとって重要な選択をコントロールするのがMutS2タンパク質といえます。

また、MutS2タンパク質のDNA/RNA切断酵素と似た領域に相当するタンパク質は、細菌からヒトまでほとんどすべての生物に保存されていますが、そのすべてが機能未知のタンパク質です。今回の解析結果は、それらのタンパク質の細胞内での役割についても手がかりを与えるものとなりました。

3.今後の期待

ヒトでは、MutS2タンパク質部分構造とアミノ酸配列が、非常に似た部分構造を持ったタンパク質「BCL3-結合タンパク質」が存在します。BCL3タンパク質は、ヒトの乳がんやマウスの皮膚がんなど、がん化した細胞において発現量が増加していることが知られており、BCL3-結合タンパク質のゲノム安定性維持機構への関与が疑われています。アミノ酸配列の高い相同性は、同じ機能を持つことを示唆するため、ヒトなどの高等生物においても、高度好熱菌と同様の反応機構がゲノム情報の維持を担っている可能性が考えられます。

高度好熱菌に存在する約500種類の「あらゆる生物に共通して存在しながら機能のわかっていないタンパク質」の機能を明らかにすることは、細胞内のあらゆる生命現象をシステムとして理解することに必須であり、それは同時に、ヒトを含めた高等生物における生命現象の理解にもつながると期待されます。

(問い合わせ先)

独立行政法人理化学研究所

播磨研究所 放射光科学総合研究センター

放射光システム生物学研究グループ

グループディレクター 倉光成紀 (くらみつ せいき)

Tel : 0791-58-2891 / Fax : 0791-58-2892

システム生物学統合研究チーム

研究員 福井健二 (ふくい けんじ)

Tel : 0791-58-2891 / Fax : 0791-58-2892

リサーチアシスタント 北村吉章 (きたむら よしあき)

Tel : 0791-58-2891 / Fax : 0791-58-2892

播磨研究所 研究推進部 企画課

Tel : 0791-58-0900 / Fax : 0791-58-0800

(報道担当)

独立行政法人理化学研究所 広報室 報道担当

Tel : 048-467-9272 / Fax : 048-462-4715

Mail : koho@riken.jp

<補足説明>

※1 高度好熱菌サーマス・サーモフィラス

静岡県伊豆半島にある峰温泉から発見された、85℃という極限環境で生育できる細菌（バクテリア）。熱水中で生きている細菌（好熱菌）は全生物の共通祖先に近い位置にあり、原始生命の基本的特徴が凝縮されているといわれている。好熱菌の細胞内の生命現象を理解することは、ヒトを含めたあらゆる生物の基本を理解することにつながると考えられている。

※2 DNA 組換え反応

DNA の交換反応のことで、相同な DNA 配列間で起こる組換えは相同組換えと呼ばれる。相同組換えは DNA 修復にも用いられるが、ヒトの配偶子形成時の対合した染色体（減数分裂で相同染色体が平行に並び互いに接合して二価染色体を形成すること）間での DNA の交換、細菌の外来 DNA の取り込みによる薬剤耐性の獲得など、遺伝情報の多様化にも必須の反応である。

※3 高度好熱菌丸ごと一匹プロジェクト

高度好熱菌サーマス・サーモフィラス HB8 株を地球上のあらゆる生物の代表（モデル生物）とし、DNA、タンパク質、糖質、脂質、そのほかの低分子の構造と機能に基づいて、1つの細胞におけるあらゆる生命現象をシステムとして理解する学問基盤の構築を目指すプロジェクト。このプロジェクトは以下の4段階で進行すると想定しており、SPring-8 においてはイメージングに関連した研究を行う。

- 第1段階: タンパク質など細胞を構成する分子の、1つの細胞全体の立体構造解析
- 第2段階: タンパク質など細胞を構成する分子の、1つの細胞全体の機能解析
- 第3段階: 細胞内のそれぞれのシステム(複数分子のネットワーク関係)の解析
- 第4段階: 細胞全体のシミュレーション

※4 大型放射光施設 SPring-8(スプリングエイト)

理研が所有する、兵庫県の播磨科学公園都市にある世界最高の大型放射光施設。SPring-8 の名前は Super Photon ring-8 GeV に由来する。放射光（シンクロトロン放射）とは、電子を光とほぼ等しい速度まで加速し、電磁石によって進行方向を曲げたときに発生する、細く強力な電磁波のことである。SPring-8 では、遠赤外から可視光線、軟X線を経て硬X線に至る幅広い波長域で放射光を得ることができるため、原子核の研究からナノテクノロジー、バイオテクノロジー、産業利用や科学捜査まで幅広い研究が行われている。SPring-8 は日本の先端科学・技術を支える高度先端科学施設として、日本国内外の大学・研究所・企業からの年間1万4,000人以上の研究者によって利用されている。

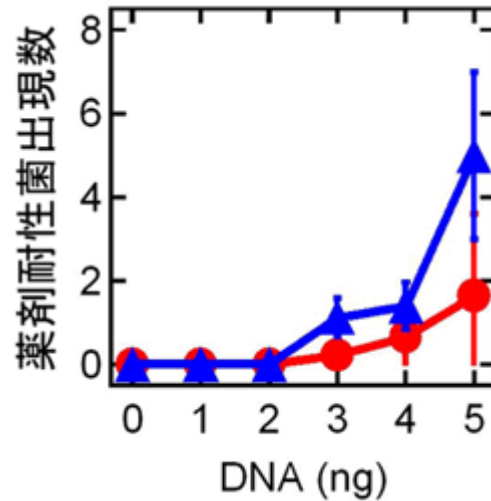


図1 *mutS2* 遺伝子破壊株の薬剤耐性遺伝子獲得能

細菌は、細胞外の DNA を、相同組換えにより自身のゲノムに取り込む。そのため、薬剤耐性遺伝子を含む DNA を細菌に与えると、相同組換えの効率に応じて、薬剤に対する耐性を示す細菌が出現する。この図では、与えた薬剤耐性遺伝子の DNA 量に対する薬剤耐性菌の出現数を縦軸に示した。サーマス・サーモフィラス HB8 野生株（赤）に比べて、*mutS2* 遺伝子破壊株（青）は、高い薬剤耐性菌出現率を示した。このことから、MutS2 タンパク質が相同組換えの効率を下げる働きをしていることが示唆された。

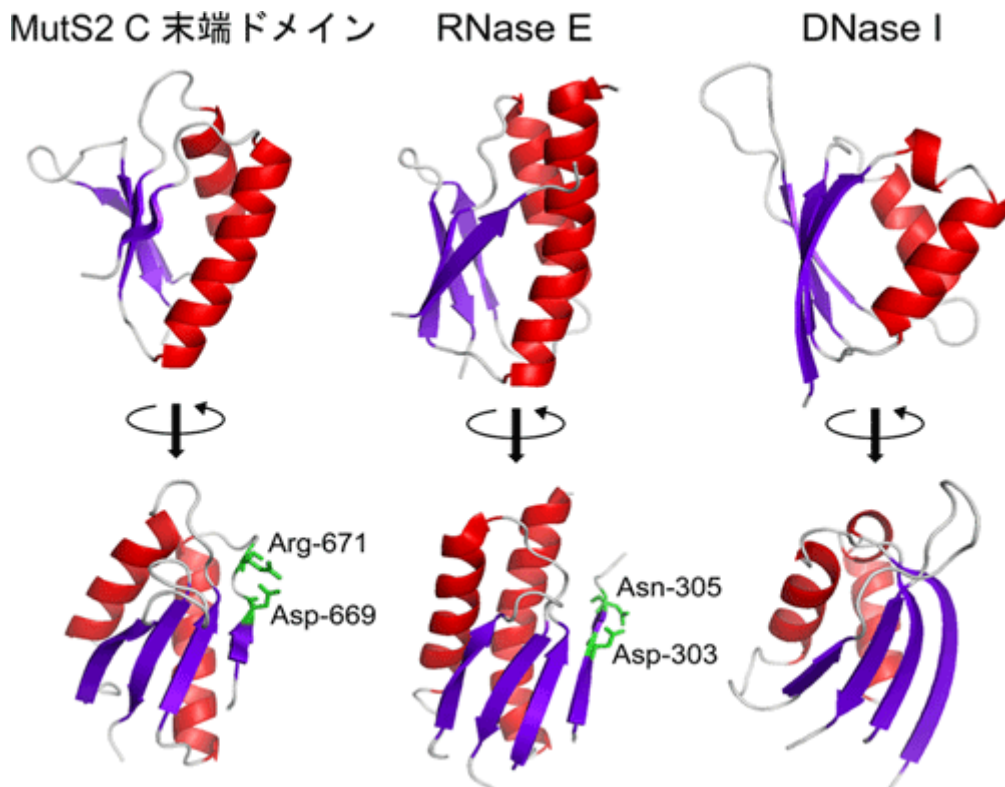


図2 MutS2 の部分構造と RNA/DNA 分解酵素の部分構造

(左) MutS2 タンパク質の部分構造。(中) 大腸菌の RNA 分解酵素 RNase E の部分構造。(右) ウシの DNA 分解酵素 DNase I の触媒ドメイン。3 者はよく似た構造を持っていた。

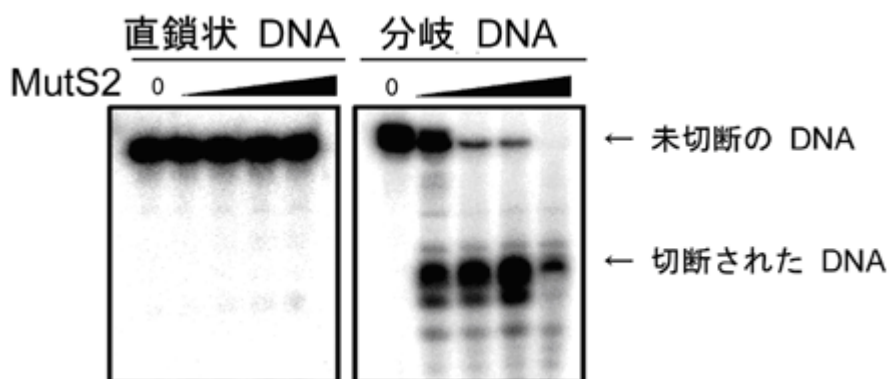


図3 MutS2 による DNA 組換え中間体の切断

MutS2 タンパク質を、通常の DNA である直鎖状 DNA、または相同組換え反応の途中で生じる分岐した構造を持つ DNA と反応させた。MutS2 タンパク質は、直鎖状 DNA をほとんど切断しなかったが、分岐 DNA を強く切断した。

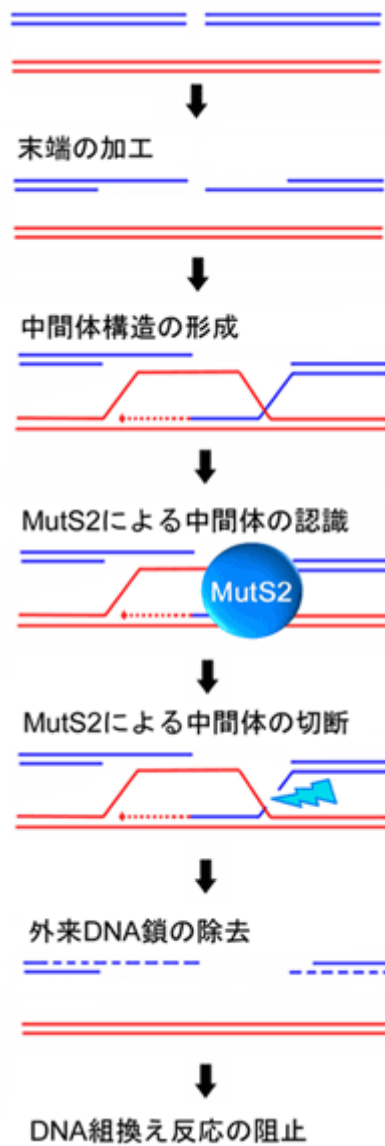


図4 MutS2 による DNA 組換え反応の抑制モデル

DNA 組換え反応の開始により、青い DNA 鎖が赤い DNA 鎖にもぐり込み、分岐した DNA 構造が形成される。MutS2 タンパク質は、分岐 DNA 構造に結合し、DNA 鎖を切断することで組換え反応の進行を阻害する。