

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いだした。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めざした。

2. 研究の成果と考察

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れたたまれ、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220kb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。

3. 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 paring 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.