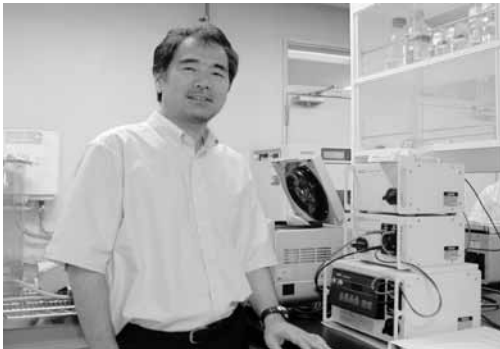




相同組換えの真理に迫る

岩崎 博史 研究室～分子生命科学専攻



岩崎 博史 教授



相同組換えとは

岩崎研究室では、生物種内における多様性の創出や DNA の損傷の修復において重要な役割をもつ相同組換えについて研究している。相同組換えとは、互いにある程度似ている（相同な）二組の DNA 間でそれらの一部が入れ換わる、あるいはコピーされる現象である。

DNA は、ヌクレオチドを構成単位とする高分子である。糖・リン酸・塩基で構成されるヌクレオチドは塩基の種類によって4種類あり、この4種類のヌクレオチドがどのように並ぶかが、遺伝情報そのものになっている。DNA は、2本のヌクレオチド鎖が塩基同士の水素結合によって結びついた二重らせん構造をとっている。生物を構成する一つ一つの細胞は DNA をもち、DNA のもつ遺伝情報にしたがって生命活動に必要なタンパク質などがつくられる。

相同組換えという現象には、二つの大きな生物学的意義がある。一つは、遺伝情報を再編成することによって生物種内における多様性を生むことである。相同組換えがはたらくと、遺伝情報が変化する。この変化が、それぞれの生物に個体差などの多様性をもたらしている。もう一つの意義は、

生物の体には、生物の設計図である DNA の受けた損傷を修復したり、遺伝情報の多様性を生み出したりする仕組みが備わっている。その仕組みの一つである相同組換えは、大変興味深い機構をもっている。

岩崎研究室は、これまで相同組換えの反応機構研究を分子や原子のレベルで開拓してきた。その成果は、現在の分子遺伝学を支える基礎的な知識となっている。本稿では、相同組換えの基本反応に関わるタンパク質を中心に、多大な労力をかけて獲得された相同組換えの実像を紹介していく。

相同な DNA を DNA 合成の鋳型として利用することによって損傷を受けた DNA の修復をすることである。DNA 二重鎖には、2本の鎖両方に切断が生じることや対合する鎖のない一本鎖の部分が生じることがある。その場合、DNA の失われた部分に相同な塩基配列を鋳型として、欠損した部分に新しい塩基配列がつくられる。DNA の損傷が放置されると、その細胞は死んでしまう。相同組換えがはたらき DNA 損傷を正常に修復することで、細胞の死滅を防いでいるのである。

相同組換えの基幹となる反応は、DNA 鎖の交換反応である。鎖交換反応では、リコンビナーゼと呼ばれるタンパク質が触媒としてはたらくしている。相同な二組の DNA 二重鎖のうち、片方に一本鎖の部分が生じると、リコンビナーゼがはたらき、鎖交換反応が始まる。まず、一本鎖になった部分が他方の二重鎖の相同な塩基配列をもつ部分に割り込んで、二重鎖との間で一本の鎖を交換する形で新しい組み合わせの二重鎖をつくりはじめる。この過程で、交換されていく鎖は交差した状態になっている。一本鎖の部分と他方の二重鎖との鎖交換が終わると、続いて二重鎖どうしの部分

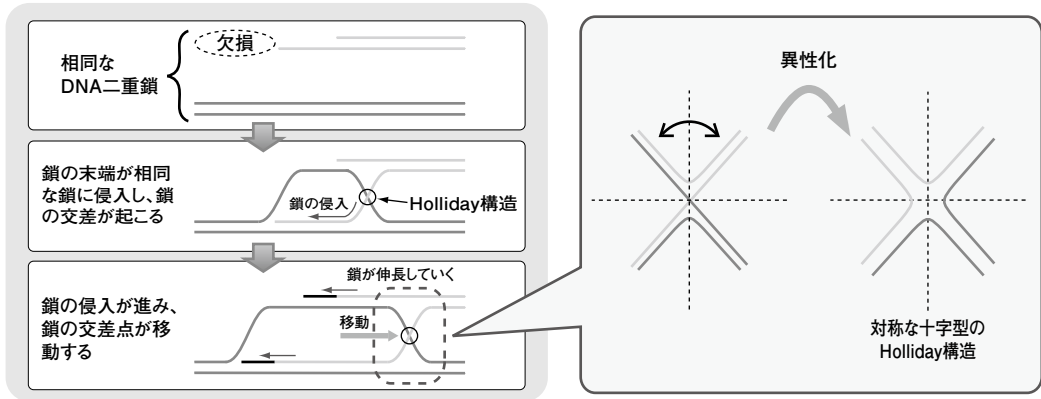


図1 鎖交換反応と Holliday 構造

について鎖交換が始まる。鎖交換が進むとともに、交換される鎖の分岐する点は移動していく。分岐点の部分の構造は、異性化すると、上下左右に対称な十字型構造となる。この4本の鎖からなる鎖交換反応中間体の構造は、Holliday 構造と呼ばれており、相同組換えに特有な高次構造として知ら

れている(図1)。

岩崎先生は、鎖交換反応に関わる物質の機能や構造を詳しく調べ、相同組換えの分子機構をさまざまな角度から明らかにしてきた。本稿では、先生がこれまでに解明した相同組換えに関する多くの知見を紹介していく。

Holliday 構造の形成から分離まで

岩崎先生は、原核生物である大腸菌を解析対象として、相同組換えの基本的な分子機構を解明した。このとき明らかになった知識は、現在では相同組換えに関する重要な知見として広く認められている。原核生物とは細胞に核をもたない生物である。大腸菌は増殖速度が大きく、分子遺伝学的な解析対象に適した原核生物である。

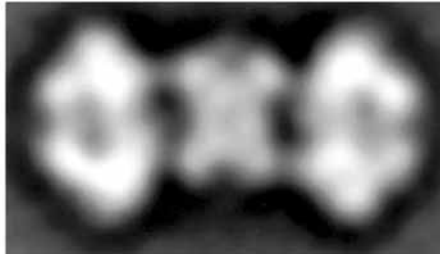
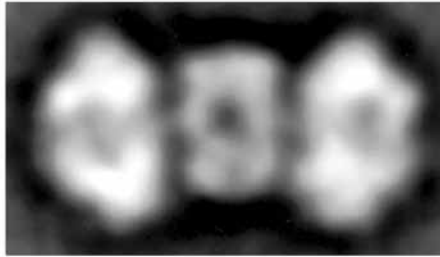
先生らは、DNA 損傷が生じると発現が誘導される大腸菌の遺伝子を解析していた。その中で、特に *ruv* 遺伝子という遺伝子に注目した。さまざまな解析から、まずこの遺伝子が相同組換えによる DNA 修復に関与することが明らかになり、*ruvA*、*ruvB*、*ruvC* 三つの遺伝子が同定された。そして、これらの遺伝子をもとに合成されるタンパク質は、RuvA、RuvB、RuvC タンパク質と名付けられた。

続いて詳細な実験を重ね、先生らは RuvA と RuvB の Holliday 構造に対する作用とその機構を解明した。化学的に合成した DNA に RuvA と RuvB を作用させた結果、RuvA が Holliday 構造と特異的に結合すること、また、RuvB はこの RuvA を介して Holliday 構造に呼びこまれる

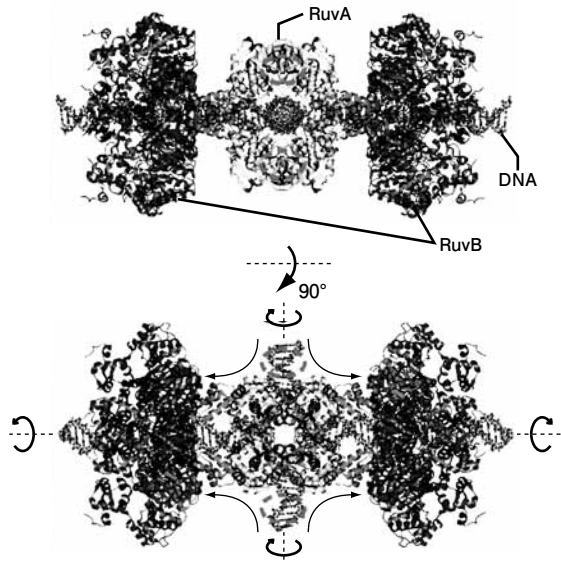
ことを見出した。さらに、この RuvA-RuvB 複合体が Holliday 構造の分岐点の移動反応を触媒していることを発見した。RuvA-RuvB 複合体は Holliday 構造の対称な二組の DNA 鎖のうち、対合相手を入れ替えた DNA 二重鎖を十字の中心から外側へ送り出す反応を触媒する(図2)。鎖の交差する点は、この送り出しによって二重らせんにそって移動していくということが明らかになったのである。

さらに先生らは、Holliday 構造を切断するタンパク質も発見した。このタンパク質は RuvC と呼ばれている。先生らは、化学合成した DNA で人工的に作成した Holliday 構造を反応基質として用いて、RuvC が二量体となって Holliday 構造を決まった位置で切断し、二組の二重鎖に分離することを示した。その後、先生ら研究グループは多くの時間を費やして、RuvC の立体構造まで決定している。

近年では、先生らは Holliday 構造と RuvA-RuvB 複合体が実際に図2の構造をとって、鎖の分岐する点を二重らせんにそって移動させていく様子をとらえている。先生らは、図2の構造をとっ



電子顕微鏡によるRuvA-RuvB複合体の解析図



RuvA-RuvB複合体により、DNA二重鎖が送り出される

図2 Holliday 構造分岐点移動反応の分子機構

(2002年 Molecular Cell Vol.10, pp671-681 より改変 Elsevier より許諾)

て二組の DNA 二重鎖間の鎖交換が行われているのであれば、DNA 二重鎖の端はこの過程でくると回転しているはずだということに着目した。あらかじめ DNA 二重鎖の端に蛍光タンパク質と色素をつけ、鎖交換反応を進行させてその様

子を高性能な顕微鏡で観察した。その結果、実際に色素で光った部分が回転している様子をリアルタイムで捉えることができた。つまり、Holliday 構造の原子レベルにおける動態観察が果たされたのである。



最先端を走る真核生物の相同組換え研究

原核生物における相同組換えについての詳細な研究がなされた後、岩崎先生は、続けて真核生物の相同組換えについて研究を展開してきた。真核生物とは、細胞の中に DNA を格納する核をもつ生物を指し、ヒトも真核生物の一つである。先生は、真核生物のうちで主に分裂酵母を解析対象としている。

原核生物のリコンビナーゼである RecA は、DNA の一本鎖領域が生じると、そこにいくつも並んで結合する。そして、数珠状に連なった RecA と DNA はフィラメントと呼ばれる線状の構造を形成する。このフィラメントがよく似た DNA の塩基配列を見つけて、鎖を交換させる。真核生物には、RecA に相同な Rad51 と呼ばれるリコンビナーゼが存在し、岩崎先生らは、その作用について RecA の場合との共通点と相違点を明

らかにしてきた。

Rad51 は、RecA に比べて、試験管内での鎖交換反応に対する触媒活性が非常に低い。これについて先生らは、新たな補助因子である Swi5-Sfr1 複合体を発見した。Rad51 だけでは試験管内での鎖交換活性が極めて低いところで、Swi5-Sfr1 複合体を添加したところ、劇的に反応活性が上昇した。このことから、Swi5-Sfr1 複合体は、真核生物のリコンビナーゼである Rad51 の新たな補助因子として鎖交換反応を促進することが証明された。

さらに岩崎先生のグループは、Rad51 が四本鎖交換反応を触媒する機能を持ち、しかも RecA の場合と逆方向から作用することも証明した。

四本鎖交換反応の中間体である Holliday 構造の形成は、原核生物において証明されていたが、

真核生物においては全く確認されておらず、真核生物のリコンビナーゼには Holliday 構造を形成させる機能がないと考えられていた。二重鎖と一本鎖の間で起こる三本鎖交換反応において、分裂酵母の Swi5-Sfr1 複合体が Rad51 を活性化する作用を示していたことから、先生らは Rad51 も Swi5-Sfr1 複合体によって活性化されていれば四本鎖交換反応を起こすはずだと考えた。そこで、**図 3** のような反応系を用いて DNA に Rad51、Swi5-Sfr1 複合体をあわせて加え、解析を行った。すると、Holliday 構造の形成が検出され、生成物として対合相手の入れ替わった DNA が得られた。その後、先生らはヒトの Rad51 についても同様の証明に成功した。真核生物のリコンビナーゼが普遍的に Holliday 構造の形成と鎖の分岐点の移動を促すことが示されたのである。

先生らが Rad51 による四本鎖交換反応を証明した際、想定外に判明した事実が、Rad51 と RecA の作用する方向が正反対であることだ。DNA には、ヌクレオチドの糖の炭素番号をもとに 3' → 5' 方向と 5' → 3' 方向という方向性がある。Rad51 による四本鎖交換反応は、**図 3** の二重鎖環状 DNA 中の一本鎖部分を基準として、3' → 5' の方向に進んだ。また、RecA 存在下で同様の実験を行ったところ、正反対の結果が得られた。RecA による鎖交換は、一本鎖領域について 5' → 3' の方向に起こるといことである(**図 3**)。3' → 5' 方向の鎖交換は、両方の鎖に切断の入った DNA 二重鎖を修復する際には、有効な鎖交換である。一方、5' → 3' 方向の鎖交換は、片方の鎖に切断の入った DNA 二重鎖を修復する際には、有効な鎖交換である。先生は、原核生物と真核生物では、それぞれどちらのタイプの DNA 修復をより重要視するかによって、異なった進化をしてきたのではないかと考えている。

岩崎先生は今後も、真核生物の相同組換えにつ

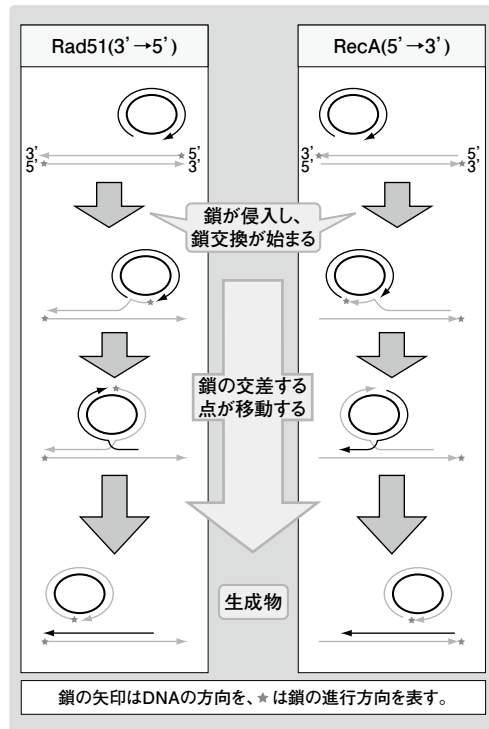


図 3 四本鎖交換反応の模式図

いて、試験管内で Holliday 構造を再構成する反応系の確立や原子レベルでの構造解析など多様な方法を駆使し、研究の深化を試みている。研究者によって研究のスタンスはさまざまで、広い分野のことを解明したいと思う人もいれば、一つの現象やテーマについてより深く追求していかうとする人もいる。岩崎先生は後者であり、相同組換えの分子機構についてより深く知ろうとしている。この研究が工学の分野で社会的にどう役に立つかということも大切であるが、先生は基礎研究に重きをおいている。基礎研究は学問の根底にあるものだと考えているからである。知的好奇心を原動力として基礎研究を続ける岩崎先生の、次の発見を心待ちにしたい。

本稿の執筆にあたり、岩崎先生には相同組換えに関するさまざまなお話を伺いました。岩崎先生のお話は非常に知的好奇心を刺激する内容で、改めて生命は複雑かつ巧妙なシステムによって成り立っているのだと実感し、その真相を探る基礎研究の魅力が感じられました。

末筆になりますが、お忙しい中取材に快く応じて下さり、また貴重なお時間を割いて数多くの助言を下さいました岩崎先生に、厚く御礼申し上げます。岩崎先生始め研究室の皆様の一層のご活躍を心よりお祈りいたします。

(中村 将聡)