

老化およびゲノム安定化に関わる新規遺伝子の機能

Analyses on the novel genes which function correlate with aging and genome stability in *Neurospora crassa*

プロジェクト代表者：畠山晋（科学分析
支援センター・講師）

Shin Hatakeyama (Molecular Analysis and
Life Science Center, Lecturer)

本研究では、アカパンカビの寿命、特に1. ミトコンドリアゲノムの維持、2. 核ゲノムの安定化に関わるであろうと予想される遺伝子についての解析を行った。

1. ミトコンドリアゲノムの維持に関わると予想された遺伝子は、メチル化剤に対する感受性株において、植継ぎ回数に制限があるという珍しい形質により見い出され、これを相補する遺伝子として単離された。この遺伝子の欠失は菌糸成長が早期に停止し、アカパンカビの寿命について何か関係があると予想された。菌糸成長の停止の引き金となるような現象として菌糸内のミトコンドリアが異常な形状を示していたこと、またミトコンドリアのゲノムに欠失を生じていたことから、ミトコンドリアゲノムの安定化に関わるという遺伝子の機能が予想され、この遺伝子機能の不全によって生じるミトコンドリアゲノムの不安定化がアカパンカビの寿命に大きく関連していると考えた。さらに遺伝子の機能をタンパク質レベルにおいて調査する必要があるので、当該遺伝子の標識化すなわちタグの付加等について検討し、アカパンカビにおいて安定して発現する株の作出を試みた。タグを付加してアカパンカビの特異的な遺伝子座に導入する手段としては、当研究室において開発し、真菌研究において有効な手段になりつつある、非相同末端結合系を欠損した宿主株を用いることによって容易に達成することができた。そしてそのタンパク質の検出のための系を構築するために本プロジェクト経費を用いて環境の整備を行い、現在安定したタンパク質の検出が可能となっている。ミトコンドリアゲノムの維持に関わる遺伝子のタンパク質レベルでの解析は、会合タンパク質の同定の段階に入っている。免疫沈降、抗体を用いた検出のための詳細な条件検討を継続して行っている。

2. アカパンカビの核ゲノムの安定化に関わっていると予想される遺伝子は、メチル化剤に対する感受性変異株について、これを相補する遺伝子として単離された。DNA修復についての遺伝学的な上位関係の解析を行なったが、この遺伝子は、「ヌクレオチド除去修復」「組換え修復」「非相同末端結合」「チェックポイント系」のどのDNA修復系にも属さず、とりわけチェックポイント系に属する*mus-21*変異との二重変異によって合成致死になることは興味深い。また、組換え修復遺伝子との二重変異は200時間程度で、菌糸の先端成長の速度の遅延をもたらした。以上を鑑みて、この遺伝子の機能を予測したときに核ゲノムの安定化に対して何らかの機能をもつことが考えられた。そこで染色体の構造、すなわちヒストンの修飾によるヌクレオソームの安定化に関する最近の知見も踏まえて解析することにした。ヒストンH3の56番目のアミノ酸であるリジンのアセチル化を特異的に認識することができる抗体を用いて検出を行なった。その結果この遺伝子の変異によって、ヒストンH3のリジンのアセチル化ができないことが明らかになった。一般にヒストンはアセチル化されることによってヌクレオソーム構造を強固なものにし、転写などのようなヌクレオソーム構造が緩くなる必要がある場合には、脱アセチル化酵素の働きによってアセチル基を外す。今回、遺伝子の欠損によってアセチル化が不全になることから、ヌクレオソームの構造が維持できていないことが推察され、ヒストンのアセチル化においてこの遺伝子が重要な働きを担っているものと考えられる。今後、当研究室が保有している未同定遺伝子について、ヒストンのアセチル化に関するスクリーニングを行ない、染色体の構造に影響を与える遺伝子の探索と、染色体のゲノム維持機構の解析により深い洞察を与える予定である。

(外部資金獲得状況)

・ 科学研究費（萌芽）平成17年～18年；349万円 採択

「担子菌の標的遺伝子を高効率かつ高選択制をもって破壊する方法の開発」