

平成22年度学融合推進センター学融合研究事業 成果報告書

研究テーマ名称	ガン遺伝子増幅の機構は、遺伝子進化の機構足り得るか？
応募事業区分	「公募型共同研究」
申請代表者氏名	堀内 嵩

○ 研究状況報告

今年度は以下の3つのテーマの内、以下の2つについて解析した。(1) 酵母で明らかにされたガン遺伝子タイプの増幅機構が、動物細胞でも成立するか？(2) 増幅機構の中心反応である Double Rolling Circle Replication (DRCR)において組換え反応が顕著に活性化されるが、それは DRCR に依存するか？

(1) 酵母では、FAIR 構造 (→←→←) が存在すると自然条件下で DRCR を誘導し、ガン遺伝子タイプの増幅を起こすことを明らかにしてきた。そこでここでは動物細胞においても同様のことが起こるかを調べるために、動物細胞の染色体上に FAIR 構造を構築すべく、Cre-lox や N15 フェージのゲノム線状化システムを利用して、FAIR 構造を構築することに成功した。今後、この動物細胞を用いて、酵母と同様、自然条件下で DRCR により遺伝子増幅が誘導されるかどうかを調べたい。

(2) DRCR は Hyper-recombination なプロセスか？については、自然条件下で唯一 DRCR を行う酵母の2ミクロプラスミドを用いて調べた。DRCR を行うプラスミドは、確かに逆位、欠失、倍化の組換え反応が活性化されたが、正常な複製しか出来ない DRCR 欠損プラスミドでは、それら全ての組換え反応を検出出来なかった。つまり相同組換えの活性化は DRCR に依存することを結論した(印刷中)。また、DRCR が相同組換えを活性化するモデルを提示した。今後このモデルの正否を検証したい。

○ 当該事業年度において達成された研究成果

特に強調したい研究成果は、(2) の DRCR が Hyper-rec なプロセスであることの発見である。これまで、複製によって組換えが活性化するなどとは、誰も想像し得なかった。ところが正常な複製では全く組換えは活性化されないのに、DRCR では著しい組換えの活性化が起こったのである。この現象の生理的意味はなんだろうか？我々は以下の様に考えている。動物細胞のゲノムには、トランスポゾン様因子 (TE) がゲノムの 1/4~1/3 を占めている。そのため、DRCR が開始されると、あらゆる組み合わせの組換えが起こり、その結果、その時の選択条件下に有利な遺伝子が増幅され、中性或いは有害な遺伝子や領域は除かれることが予想される。これは、従来謎とされてきた動物細胞での遺伝子増幅時における激しいゲノム再編の現象をうまく説明できることが出来ると共に、細胞内で遺伝子間の競争が起こっているとも考えることができる。

○ 本研究を基に発表した論文と掲載された雑誌名等のリスト (論文があれば添付)

(1) Okamoto, H., Watanabe, T., and Horiuchi, T. (2011) Double Rolling Circle Replication (DRCR) is recombinogenic. *Genes to Cells* (in press).

(2) Watanabe, T., Tanabe, H., and Horiuchi, T. Gene amplification system based on double rolling-circle replication undergoes oncogene-type amplification (submitted)