

7

ncDNA

N E W S L E T T E R

「ゲノムを支える非コード DNA 領域の機能」

文部科学省科学研究費補助金 新学術領域研究（研究領域提案型）

2014
December





contents

巻頭言	2
研究成果の紹介	
□ コヒーシ結合部位において形成される 減数分裂組換えコールドスポット	4
□ Rad9-Hus1-Rad1とTopBP1の相互作用が ATR-ATRIPを活性化し、TopBP1の 紫外線損傷部位への局在を促進する	6
□ 分裂酵母を用いた集団ゲノム解析：インターメアの探索	8
□ 『そんなはずは無い』の中に	10
□ ファンconi貧血蛋白質FANCD2 が 制御するもう一つのヌクレアーゼ： 新規会合分子CtIP の同定	12
学会見聞録	14
第7回領域会議	15
コラム	16
編集後記	19

巻頭言

2015年大胆予測 —どこに行くのかゲノム研究—

ゲノム研究は今も革命的に進歩している

21世紀に入って、生物学のみならずすべての科学においてもっとも進歩したのは、おそらくゲノム研究です。正確にはゲノム配列の決定技術です。1990年代初頭にクリントン米国大統領がヒトゲノム計画を世界規模の共同研究で進めることを表明し、以来配列決定技術の開発競争が盛んになり、結果的に予定より早い2003年には大体の配列が決まりました。その後も次世代型シーケンサーの登場により配列解読速度が飛躍的に上昇し、最初は約10年かかったヒトの配列決定も、今ではなんと数週間でするようになりました。これは例えて言うなら東海道（東京—大阪間）を蒸気機関車が1日かけて「旅行」していた時代から、新幹線を通り越して一気にリニアモーターカーが1時間で「飛んでいく」くらいの進歩です。それを高々10年ちょっとで成し遂げた訳で、まさに革命的進歩です。

原動力はイノベーション

この超高速配列決定の技術開発の陰には、もちろん生命科学の1分野としてのゲノム研究があります。我々の領域もその一端を担っている訳です。例えばゲノム配列の比較による進化の研究などはその代表例です。それとは別に、この革命的進歩を最も後押ししたのは何と言っても製薬企業を中心とし医療産業でしょう。平たく言えば「ゲノム研究は儲かる」と考えたイノベーションです。実は私は身をもってこのイノベーションのすごさを体験しています。私事で恐縮ですが20年前の1995年、米国のロッシュという製薬会社の研究所に務めておりまして、日々 DNA 複製の研究に勤しんでおりました。しかしある日突然会社から「解雇予告通知」なるものが送られて来ました。慌ててボスのところに聞きにいったら、彼曰く「Me, too!」（俺もだ!）。聞いたら研究所員全員に「解雇予告通知」がきており、理由は「来るべくゲノム時代に対応すべく、まずはPCRの特許を会社ごと買い取ることに決めた。そのためにお金がいるのでロッシュグループの社員を全世界で千人規模リストラする」ということでした。日本の鎌倉研究所もリストラされたと聞いています。リストラはショックでした

が、同時にになにかすごいことがこれから起こるのだと、身震いしたのを憶えています。

なんでそんなに激しいリストラまでしてゲノム研究を推し進めなければならなかったのでしょうか？それはもちろん企業ですから「ゲノム研究は儲かる」と予測し、乗り遅れてはいけないと思ったからです。

血液型性格診断ならぬ 遺伝子診断ブームの到来？

それで話は現在に戻ります。ちまたでは「遺伝子診断」の広告がちらほら目につくようになってきました。口の中の粘膜の細胞を自分でこすり取って送ると、何万円かでいくつ遺伝子を調べてくれて性格や体質、将来の適した職業など様々な情報を教えてくれます。中には男女の相性まで調べてくれるものもあります。これら「診断」項目には、たとえばお酒に強いか弱いかなどかなり信頼性の高いものから、これはどうかな？というもののまであります。一応は何かしらの科学的根拠があって「診断」しているようです。既に自覚しているものについては正直どうでもいいのですが、子供の診断など将来の予測が入ってくると、やはり気になると思います。例えば、マラソンの選手が長距離よりも短距離が向いていると「診断」されたら、それが原因で種目を変更してしまうかもしれません。遺伝子「診断」を信じるかどうかは、個人の自由ですが、国によってはかなりブームになっているところもあるようです。私の個人的な予測では、日本は「精神論」の国で「努力をすれば何でもかなう、ダー！」という考えが強いので、あまりブームにはならないと思いますが、どうでしょうか？

病気予測は医療か？

将来予測で一番気になるのは一部の癌や心臓病など遺伝的要因が比較的大きいとされている病気の発症率予測です。数年前、米国の人気女優が、遺伝子診断で将来乳がんになる可能性が80%以上と「診断」され、両乳房の切除手術を受けました。それによって発ガン確率が5%に減ったそうです。この「事前切除」に関しては専門家からは医療行為として最善かどうかの賛否があるようです。私は遺伝子診断により今現在では病気ではない体を「治療」することは未来型の医療の1つの形で今後はさらに広がっていくであろうと予想しています。ある意味予防療法ですね。ただ乳がんのような代償の大きい「治療」についてはもう少しデータの蓄積と議論が必要でしょう。

実はこれは他人事ではなくて、将来誰にでも似たような「選択」を迫られる時代が来ると予想しています。たとえば病気に関わる遺伝子が次々に解明され遺伝子診断で「あなたが何年以内に――病になる確率は80%です。しかし安心してください。――の手術をすればそのリスクを5%まで減らせます」と言われたらどうしますか？手術とまで言われなくても「――という予防薬を飲み続ければ、そのリスクを20%まで減らせます」と言われたら、おそらくほとんどの人は飲み始めるでしょう。これで寿命が延ばせれば万々歳ですが、いいことばかりでもないかもしれません。つまりゲノム診断が進歩すればだれでも何らかの病気のリスクが発見され、結局何かの薬を一生飲むことになるのかもしれない。

ゲノム研究による70億人総患者化

もちろん予防薬は病気のリスクが減らせていいのですが、もっといいのは製薬会社です。つまり「現在病気ではない人に薬が売れる」わけでこれは一気に市場拡大です。おそらくゲノム解析技術の莫大な投資の裏にはそのような「期待」があったのでしょう。もちろん人類の健康に繋がることなので、基本的には当然の流れだと思います。

私の予想では2015年は上で書いたような方向性が見えてくる年になるかもしれません。ゴールは地球の人口70億人の総患者予備軍化です。今から薬を飲む覚悟を決めないと。



領域代表
小林 武彦
国立遺伝学研究所

伊豆大瀬崎から望む富士の夕暮れ

研究成果の紹介

コヒーシン結合部位において形成される
減数分裂組換えコールドスポット

伊藤 将

東京大学大学院
総合文化研究科

Meiotic recombination cold spots in
chromosomal cohesion sites.
Masaru Ito, Kazuto Kugou, Jeffrey A. Fawcett,
Sachiko Mura, Sho Ikeda, Hideki Innan, and
Kunihiro Ohta
Genes Cells. 19: 359-73 (2014)



減数分裂期の遺伝的組換えは、生命が多様な子孫を安定的に獲得する上で不可欠なプロセスです。減数分裂期の遺伝的組換えは、DNA 二本鎖切断（double-strand breaks; DSBs）によって開始されます。DSB 形成は、遺伝的組換えの初期反応として組換えの“場所”と“頻度”を決定する極めて重要な反応です。私は卒業研究から、出芽酵母を用いて、DSB 形成の制御機構について研究を進めてきました。

DSB は種間でよく保存された Spo11 タンパク質と、複数の Spo11 補助因子（出芽酵母では、Spo11 に加えて Ski8, Rec102, Rec104, Mer2, Mei4, Rec114, Mre11, Rad50, Xrs2 の 9 因子が DSB 形成に必須）の働きによって形成されます。DSB は染色体上において一様な頻度で起こるわけではなく、高頻度で起こる“ホットスポット”が存在します。出芽酵母においては、約 9 割のホットスポットがプロモーター領域に存在し¹⁾、また近年、マウス及びヒトにおいては、Zn フィンガーを有するヒストンメチル化酵素 PRDM9 が DNA 配列を認識してホットスポットを決定することが明らかになりました^{2),3),4)}。しかしながら、PRDM9 を持たないその他の真核生物においては、全てのホットスポットに共通の DNA 配列は存在せず、ホットスポットがどのようにして決定されるのかは、依然として明らかになっていません。DSB 形成制御には、ヒストン修飾などの局所的なクロマチン構造が非常に重要な役割を果たすことが報告されていますが、近年、これに加えて、減数分裂期に特異的に見られる染色体の高次構造が重要な役割を果たすことが明らかになってきました。

減数分裂期前 DNA 複製を終えた染色体は、姉妹染色分体を接着するコヒーシン及び複数の因子によって構成される“軸部”と、そこから遊離した“ループ部”からなる三次元的な高次構造を形成します。先行研究により、ホットスポットの大部分がループに位置することが示されていましたが、近年、Spo11 補助因子がループではなく軸部に結合することが明らかになりました。このパラドックスを解決する考え方として、ループに位置するホットスポットと軸部が連結することで DSB が形成されるという、“軸-ループ連結モデル”が提唱されました⁵⁾。

近年、私は当研究室に在籍していた三好研究員と共に、分裂酵母において Mde2 という因子が、複製チェックポイントと連係して軸-ループ連結を介する“liaisonin”として機能することを明らかにしました⁶⁾（ニュースレター第 3 号にて紹介）。しかしながら、分裂酵母の Spo11 補助因子の大多数が保存されている一方で、Mde2 のホモログは出芽酵母におい

ては見つかっていません。また、複製チェックポイントによる DSB 制御機構についても出芽酵母と分裂酵母では異なることから、出芽酵母においては分裂酵母とは異なる機構で軸-ループ連結が制御されていることが考えられました。

私は出芽酵母の全ての DSB 因子（Spo11 及び Spo11 補助因子）の染色体上の局在を ChIP-seq により網羅的に調べ、さらに多くの変異体を用いて検証を進めてきましたが、なかなか明確なモデルが浮かばないまま時間が過ぎていきました。そうこうしている間に、ヒストン H3K4 メチル化酵素複合体 COMPASS の Spp1 という因子が、軸部に局在する Spo11 補助因子 Mer2 との相互作用を介して軸部に結合し、さらに PHD フィンガーによりホットスポット周辺の H3K4me3 を認識する（前述の通り、出芽酵母のホットスポットの大部分がプロモーター領域に存在するため、ホットスポット周辺の H3K4me3 レベルが高いことが既に報告されていました）ことで軸とホットスポットの連結を仲介する、という論文が発表されてしまいました^{7),8)}。

このような状況の中で博士課程も 3 年目を迎え、太田先生とデータを見ながら議論をしていたところ、「そもそも軸部で DSB が起きないのは不思議ではないか？」という指摘を受けました。ChIP-seq の結果、出芽酵母の DSB 因子は全て軸部に結合していることが明らかになっていましたが、軸-ループ連結の分子機構を模索するあまり、「軸に全因子が集合しているにも関わらず、DSB が起きない」ことに全く疑問を持っていませんでした。しかし、よく考えれば不思議なことです。

そこで、本当に軸部周辺で DSB が形成されていないか検証するために、軸部構成の中核を担うコヒーシン Rec8 の ChIP-seq の結果と、先行研究により高解像度で示されている DSB 部位の分布¹⁾を比較しました。印南先生と印南研究室の Jeffrey さんにご協力頂き、各ループ（Rec8 結合部位で挟まれた領域）におけるホットスポットの位置を統計的に検証したところ、軸部（Rec8 結合部位）近傍、特に軸部から 0.8kb の領域において、ホットスポットの数が有意に少ないことがわかりました。すなわち、軸部近傍では DSB 形成に必須な因子が全て集合しているにも関わらず、DSB が起こりにくい状況が作られていることが明確になりました。

では、一体どのような分子機構が存在するのでしょうか。文献を調べていたところ、減数分裂期において、転写終結点近傍では、ヒストン脱メチル化酵素依存的に H3K4 の低メチル化状態が作られていることが報告されていました⁹⁾。軸部は

コヒーシン Rec8 の結合部位であり、酵母において有糸分裂期のコヒーシンは転写終結点に蓄積することが示されています¹⁰⁾。そこで、減数分裂期の軸部周辺においては H3K4me3 レベルが低く、Spp1 による軸-ループ連結が機能しないために、DSB 形成が起こりにくいのではないか、という仮説が考えられました。この仮説を検証するために、軸部周辺における H3K4me3 レベルを調べた所、ホットスポット周辺とは対照的に、顕著にレベルが低いことが明らかになりました。また、この H3K4me3 レベルの低下が見られる領域は、軸部から 0.8kb の領域、すなわちホットスポットの数が少ない領域と一致しました（図 1）。

以上の結果から、軸部周辺においては、H3K4me3 レベルが低いために、Spp1 を介した軸部とループ部の連結が起こりにくく、それによって DSB が起こりにくい領域、すなわち“DSB コールドスポット”が形成されていることが示唆されました（図 2）。

今後の課題としては、ヒストン脱メチル化酵素の変異体を用いて、軸部周辺で DSB 形成が起こるのか、また、ヒストン脱メチル化酵素がコヒーシンとの物理的な相互作用を介して軸部に結合するか、などを検証していく必要があります。また、出芽酵母のプロモーター領域の約半数はホットスポットにならないことから、Spp1 による H3K4me3 認識機構以外にも、

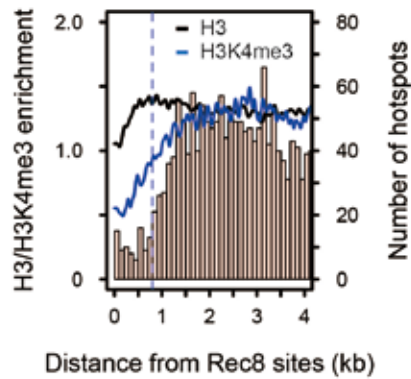


図 1：軸部周辺における DSB コールドスポット形成
軸部（コヒーシン結合部位）周辺（特に ≤ 0.8kb の領域）ではホットスポットの数が顕著に少なく、また H3K4me3 レベルも低い

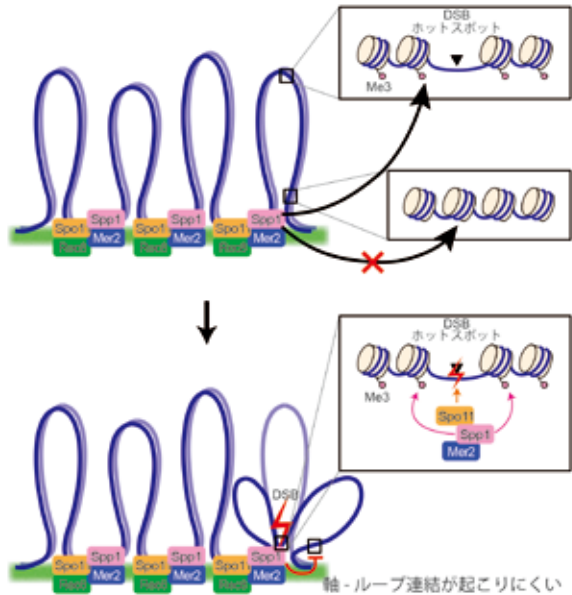


図 2：軸部周辺における DSB コールドスポット形成モデル
軸部（コヒーシン結合部位）周辺では H3K4me3 レベルが低いため、軸-ループ連結が起こりにくく、DSB ホットスポットが形成されにくい

研究成果の紹介

Rad9-Hus1-Rad1 と TopBP1 の相互作用が ATR-ATRIP を活性化し、TopBP1 の紫外線損傷部位への局在を促進する

大橋 英治

九州大学 理学研究院
生物科学部門Interaction between Rad9–Hus1–Rad1 and TopBP1 activates ATR–ATRIP and promotes TopBP1 recruitment to sites of UV-damage
Eiji Ohashi, Yukimasa Takeishi, Satoshi Ueda, and Toshiaki Tsurimoto
DNA repair. 21, 1–11 (2014)

私達は、DNA 損傷応答に関わるチェックポイントクランプ、Rad9-Hus1-Rad1(9-1-1) の機能について研究を進めています。9-1-1 はヘテロ三量体を形成し、DNA 複製の際に DNA ポリメラーゼの足場となって動く環状のホモ三量体、PCNA と同様の構造を持っています。PCNA は DNA ポリメラーゼの他に DNA 修復やクロマチン形成などに関わる様々な因子と結合してそれらの足場となって働くことが分かっています。9-1-1 もまた PCNA と同じように DNA ポリメラーゼや DNA 修復関連タンパク質と結合することが知られていますが、近年では 9-1-1 は主に DNA 損傷時のチェックポイント応答に関与すると考えられています。ヒト細胞に於ける DNA 損傷応答経路として、DNA の二重鎖切断に応答する ATM-Chk2 経路と、露出した一本鎖 DNA に応答する ATR-Chk1 経路の 2 つの代表的な経路が知られていますが、9-1-1 は主に後者で機能します。

DNA が損傷を受け、DNA 複製フォークがそこへ差しかかるとヘリカーゼはしばらくそのまま進み、その状態で DNA ポリメラーゼが停止すると、一本鎖 DNA 領域ができます。そこに RPA と呼ばれる複合体が結合し、9-1-1 を初めとする ATR-Chk1 経路関連因子を呼び込みます。クランプローダー、Rad17-RFC₂₋₅ もその一つで、損傷依存的に 9-1-1 を DNA 上にロードします。これとは独立して ATR とその結合パートナー ATRIP からなる複合体 (ATR-ATRIP) が ATRIP と RPA の相互作用により損傷部位付近にリクルートされます。もう一つのチェックポイント因子、TopBP1 は、9-1-1 および ATR-ATRIP の両者と結合して ATR を活性化することが知られています。

私達は数年前に、カゼインキナーゼ 2 (CK2) というユビキタスなキナーゼが Rad9 の C 末端に存在する 341 番目と 387 番目のセリンをリン酸化することを示し、さらに CK2 で 9-1-1 をリン酸化することで 9-1-1 と TopBP1 のリン酸化依存的な結合を再構築することに成功しました (Takeishi *et al* 2010)。また、これらのリン酸化部位をアラニンに置換した Rad9 (2A 変異体) をヒト細胞で過剰発現すると紫外線やアルキル化剤に対して感受性を示しました (Takeishi *et al* 2010, Ueda *et al* 2012)。実際、この感受性は内在性の Rad9 をノックダウンしてもほとんど変わらなかったことや、これらの細胞内での Rad9 と TopBP1 の結合量や ATR 活性化の指標となる Chk1 のリン酸化の程度が感受性と逆相関していたことから (Ueda *et al* 2012)、Rad9 の DNA 損傷時における役割の大部分が ATR を活性化させることにあると結論づけました。

私達は、この Rad9 の 2 つのセリンのリン酸化を介した 9-1-1 と TopBP1 の結合とそれらの細胞内局在との関係に着目し

ました。当時少なくとも 2 つの一見矛盾するかの論文が報告されていて (Delacroix *et al* 2007, Yan and Michael 2009)、TopBP1 が 9-1-1 を損傷部位に連れてくるのか、9-1-1 が TopBP1 を損傷部位に連れてくるのか判断できませんでした。それで、私達で調べてみた訳です。クロマチン分画法と局所的紫外線照射法を用いて調べてみましたが、結果はそれほど単純ではありませんでした。TopBP1 をノックダウンすると Rad9 の紫外線依存的なクロマチン局在や紫外線照射部位への局在が減少しました。一見、TopBP1 が結合した 9-1-1 を損傷部位に連れてくれるかのように見えたが、この局在の減少は TopBP1 と結合しない Rad9 の変異体 (2A) では見られませんでした。したがって、9-1-1 は TopBP1 により損傷部位への局在が促進されますが、それは TopBP1 との結合そのものを介してではなく、TopBP1 によって 9-1-1 が損傷部位へ局在しやすい状況が作り出されていると考えられます。

一方、Rad9 の 2A 変異体を過剰発現させた株では TopBP1 の損傷部位への局在が、野生型の発現株に比べて有意に遅れることが分かりました。この結果は前の結果とは逆に、9-1-1 が結合した TopBP1 を損傷部位に連れてくるように見えます。まさに、これこそが私達が求めていた 9-1-1 と TopBP1 の結合の意義ではないかとまで思いました。しかし冷静になって考えると、そもそも TopBP1 と結合しない Rad9 (2A) を過剰発現させると ATR の活性化が抑制されることを私達自身が見だしていたことを思い出しました。つまり、Rad9 が直接結合する TopBP1 を損傷部位に連れてくる訳ではなく、両者の結合により、ATR が活性化され、それを介して間接的に TopBP1 の損傷部位への局在を促進している可能性が排除できていなかったのです。そこで ATR の特異的な阻害剤 (VE-821) を用いて同様の実験をしたところ、懸念の通り ATR の活性化を介した間接的なメカニズムによって TopBP1 の損傷部位への局在を促進していることを示す結果が得られました。

これらの結果から私達が考えたモデルは以下の通りです (図 1 参照)。まず、TopBP1 は 9-1-1 の損傷に依存したクロマチンへの局在や損傷部位への局在に必要ですが、Rad9 との直接的な結合は不必要なので、TopBP1 は 9-1-1 のローディングに必要な環境を作り出していると考えられます。例えば、TopBP1 は複製開始にも必要なことから、S 期の細胞を供給して 9-1-1 のローディングが起こる状況を作ると考えることができます。また、TopBP1 は他の因子と結合して一本鎖 DNA 領域を拡張することが報告されています。このような方法で、TopBP1 が 9-1-1 の損傷部位への局在を促進しているとも考えられます。一方、Rad9 とは違って TopBP1 の局在は ATR の活性により促

進されます。従って 9-1-1 と TopBP1 は独立して損傷部位ヘリクルートされ得ると考えられます。両者がそこで出会い、結合すると ATR が活性化され、さらに TopBP1 をリクルートするポジティブフィードバック機構が働きます。9-1-1 と TopBP1 が結合できなければ ATR の活性化が起こらないので、2A 発現株では ATR 阻害剤を用いた場合と同じように TopBP1 の集積が遅れるという訳です。このように、9-1-1 と TopBP1 の損傷部位への局在は互いに依存していますが、これらの結合自体が直接局在に影響している訳ではなく、間接的な作用によりこの相互依存的な損傷部位への局在が起こっていることが分かりました。前述の少なくとも 2 つの一見相矛盾するような論文は、このような複雑な状況の互いに異なる側面を見た結果を記述したものと考えられます。

では、結局 9-1-1 と TopBP1 の結合は、どのようにして ATR の活性化に関与しているのでしょうか？これはまだ推測の域を出ませんが、ATR 活性化因子である TopBP1 が 9-1-1 と結合す

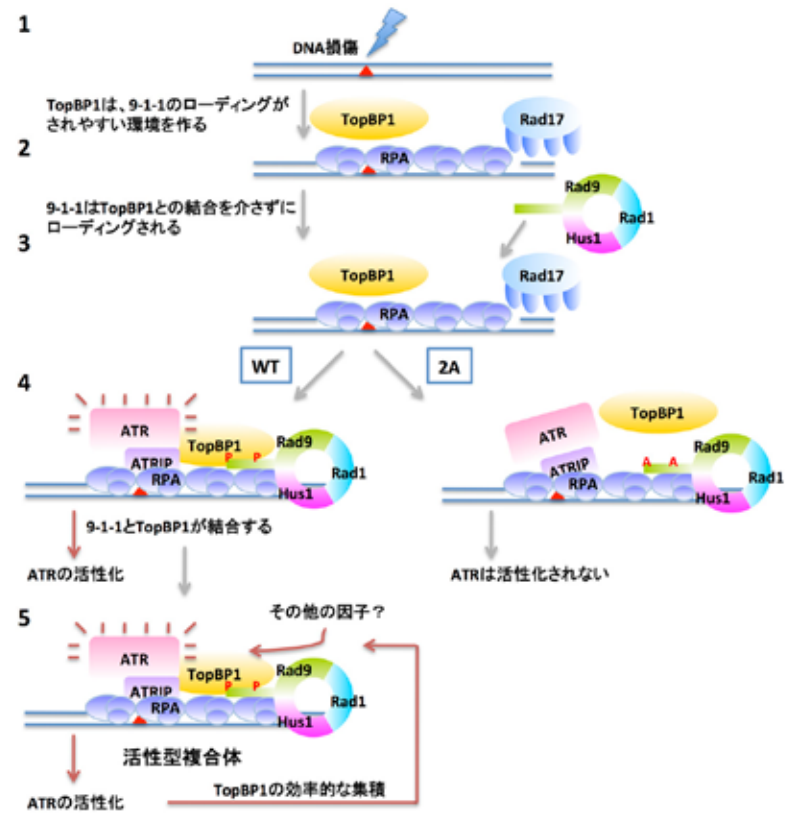


図 1 9-1-1 と TopBP1 の損傷部位への集積と結合による ATR の活性化機構

研究成果の紹介

分裂酵母を用いた集団ゲノム解析：
インターメアの探索

Jeffrey A. Fawcett

総合研究大学院大学
先端科学研究科Population Genomics of the Fission Yeast
Schizosaccharomyces pombe
Jeffrey A. Fawcett¹, Tetsushi Iida, Shohei Takuno,
Ryuichi P. Sugino, Tomoyuki Kado, Kazuto Kugou,
Sachiko Mura, Takehiko Kobayashi, Kunihiro Ohta,
Jun-ichi Nakayama, Hideki Innan
PLoS ONE 9, e104241 (2014)

ゲノム中に存在する未知の機能配列を見つけるにはどうすればいいでしょうか。例えばゲノム中の全領域、全サイトを手当たり次第につぶしたり変えたりしてみてもどうなるかを見てみる、というのも一つの方法かもしれません。ただいくらゲノムサイズの小さなモデル生物であってもこれはあまり効率のいい方法ではないでしょう。ところが自然界ではこういった「実験」が進化の過程上繰り返し行われてきていると言えます。この「自然界の実験」の結果、つまり「ここはつぶしたらまずいらしい」「ここを変えてみたらこうなった」といったような情報を読み解いていく、あるいは読み解く方法論を構築していくのが我々の研究の大きな目的です。そして、そういったゲノム進化、集団遺伝等の解析をもとに、「ここは調べてみる価値がある」といったような機能配列（インターメア）の候補領域を提供するのがこの新学術領域における我々の大きな役割の一つです。その一環として行ったのが、新領域内の複数のグループと共同で行った分裂酵母の野生株 32 系統の全ゲノム配列の決定および集団ゲノム解析です。その成果を先日論文として発表することができましたので、本稿ではその概要を紹介しようと思います。

ある種における「自然界の実験」の結果を読み解くには、その種のゲノム配列の集団内における変異のパターンを調べるのが非常に有効です。例えば、ある突然変異がその個体にとって不利だった場合、その変異をもつ個体が集団内で増加する可能性は極めて低くなります。このため、こういった遺伝子の非同義置換サイトなどの「変わったらまずい」サイトは、遺伝子の同義置換サイトなどの「変わってもあまり問題がない」サイトと比べて集団内における変異の量が非常に低くなると考えられます。また逆に、有

利な突然変異が集団内に急速に広まった場合、それにとまってその有利な変異を含む領域で変異の量が非常に低くなることが知られています。このため、変異の量が著しく低下している領域があれば、その領域内に「変えてみたら非常にうまくいった」、つまりそれらの個体にとって非常に重要なサイト・領域が存在することが予想できます。

このように、集団ゲノム解析は、未知の機能配列や、特定の形質の原因配列の探索に非常に有効であり、シーケンシングのコストが低下した近年では多くの種で行われています。ところが、というわけが非常に重要なモデル生物である分裂酵母ではこれまで集団のゲノムデータに関する研究はほぼ手つかず、という状況でした。そこで、我々は世界中に分布している分裂酵母の計 32 の野生株の全ゲノム配列を決定しました。作業としては、まず次世代シーケンシングにより各個体につき 200-250 bp のリードを大量に生成し、各リードをすでに全ゲノムが解読され、アセンブリーもされている実験系統のゲノムにマッピングしました。そこから信頼度の低いサイト等を除き、最終的に変異のあるサイト約 10 万を含む 9,375,308 のサイト(全ゲノムの約 75%)について、全 32 系統の塩基を決定することができました。そして、これらの 32 系統の全ゲノムの集団データをもとに様々な集団遺伝学的な解析を行いました。そこで得られた結果のうち、「自然界の実験の結果を読み解く」という観点で興味深いものについていくつか紹介します。

まず一つ目の興味深い結果が、遺伝子間領域 (intergenic region) における変異量の低下です。変異量を示す塩基多様度

π の値が 0.456% と、「変わってもあまり問題がない」とされる遺伝子の同義置換サイトの値 (0.6%) より低く、イントロンや noncoding RNA と同程度でした。また、遺伝子の上流と下流 500 bp ずつを除いても同様の結果が得られます。分裂酵母はゲノムサイズが小さく、遺伝子間領域が占める部分もそれほど多くはありません。にも関わらず、これらの結果から、分裂酵母の遺伝子間領域、つまり非コード DNA 領域にはまだまだ同定されていない「変わったらまずい」機能配列が存在する可能性が非常に高いといえます。次に、一部の系統で変異量が著しく低下している領域が複数見られました。図 1 にそういった領域の例を 2 つ示しています。いずれも赤で示されている系統で変異が非常に少なくなっています。つまり、これらの領域に生じたある突然変異が、その変異をもつ系統に有利（もたない系統より生存する確率が高い）になる形質を産み出したことによって、その変異（をもつハプロタイプ）が現在集団内に広がっていているという推測ができます。集団全体に行き渡っていないのは、その変異が比較的最近生じたから、などの理由が考えられます。

もう一つ不思議な変異のパターンを示す非常に興味深い領域が見つかりました。この領域は 3 番染色体の末端にある rDNA リピートの近傍ではありますが、関連があるかは不明です。図 2 に示すように、赤で囲んでいる数百 bp という非常に短い領域において、変異の量がゲノム全体の約 10 倍に跳ね上がっていました。詳しく見てみると、変異の大部分が系統樹上に青で示す 5 系統と他の 27 系統との間で起きていることがわかりました。この 5 系統(実験系統と非常に近縁) はゲノム全体で見ても他の 27 系統と離れているのですが、この短い領域ではさらに離れていることになり

ます。いろんな可能性が挙げられますが、大きく分けて 2 つのシナリオが考えられます。一つ目が、この領域で最近非常に速いペースで変異が蓄積していったというシナリオです (図 2 の Tree1)。このシナリオであれば、この領域が 5 系統の環境への適応に関して非常に重要な役割を果たしている可能性が考えられます。そして二つ目が、変異が急速に蓄積したのではなく、この領域に限って 5 系統と他の 27 系統とが分かれてからの時間が非常に長いというシナリオです (図 2 の Tree2)。例えば、2 つのグループの間で生殖隔離が起こっており、この領域が生殖隔離の原因になっている場合にこのようなパターンが得られると思われます。実際に原因となっている配列・サイトは特定できていませんが、近傍に非同義置換が同義置換と比べて格段に多く起こっているようなタンパクをコードする遺伝子もなく、非コード領域が関与している可能性も十分に考えられます。

このように、集団ゲノム解析をととして、非常に重要なモデル生物である分裂酵母において「さらに調べる価値がありそうな」領域を複数示すことができました。とはいえ、本研究はあくまでも非コード領域をはじめとするゲノム領域の機能の解明に向けてのスタートです。我々が示した領域は「普通では考えられない」パターンをもつ「候補」にすぎず、こういった「ヒント」をもとに実験的手法により検証されてこそ大きな意義をもちます。今後、本研究の集団ゲノムデータおよび解析結果が、ゲノム領域の新たな機能の解明や様々な機能配列の発見につながっていくことを期待しています。

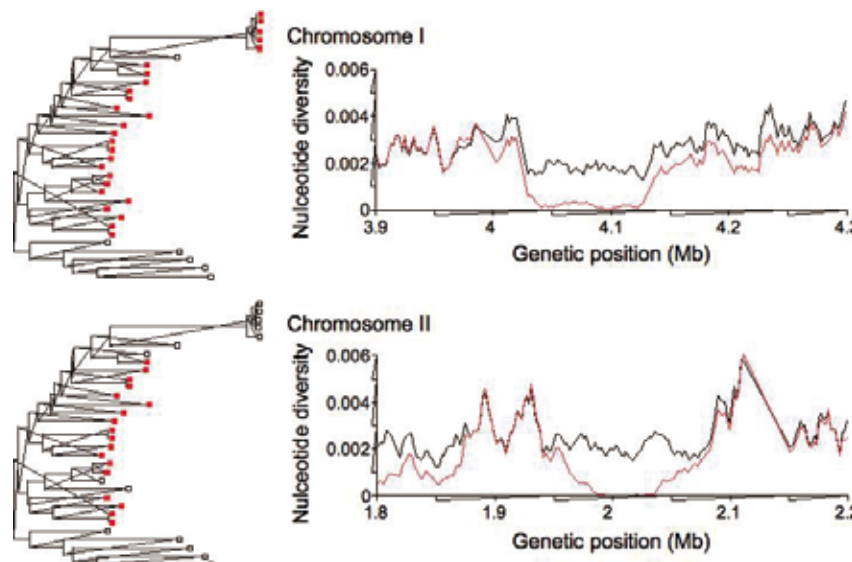


図 1 一部の系統でのみ変異の量が著しく低下している領域の 2 つの例。右図の黒が全系統の塩基多様度を表し、赤が左図の系統樹上の赤で示す系統のみの塩基多様度を表している。赤の系統で塩基多様度が著しく低下している領域内に存在するある変異が、その変異をもつ系統にとって非常に有利（もたない系統より生存する確率が高い）になったため、その変異（をもつハプロタイプ）が集団内に拡散している可能性が高い。全体に行き渡っていないのは、その変異が比較的最近生じたから、などの理由が考えられる。

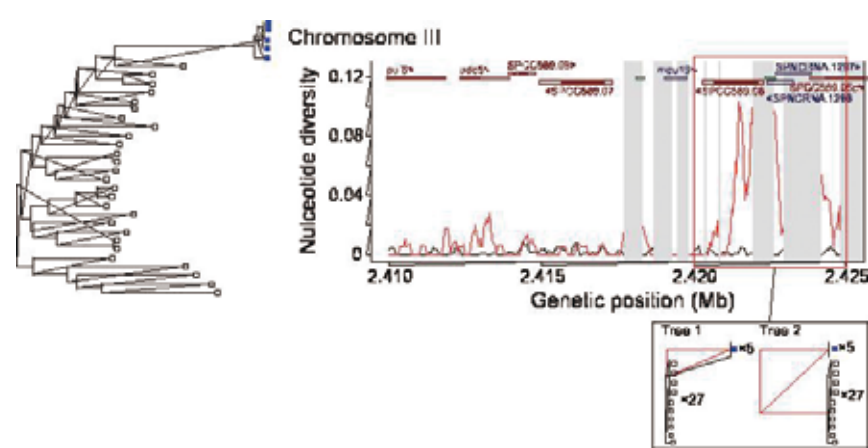


図 2 一部の系統と他の系統との間で変異が非常に多く蓄積している領域。右図の黒が全系統の塩基多様度を表し、赤が左図の系統樹上の青で示す 5 系統と他の 27 系統との間の遺伝距離を表している。2 つのグループ間の分岐が顕著な領域を赤で囲んでいる。下にこのパターンを説明する 2 つのシナリオ、すなわち、青の 5 系統で変異が急速に蓄積したというシナリオ (Tree 1)、そして 2 つのグループの分岐が非常に深いというシナリオ (Tree 2) を描いている。

研究成果の紹介

『そんなはずは無い』の中に

西淵 剛平
名古屋市立大学大学院
システム自然科学研究科



N-terminal phosphorylation of HP1 α increases its nucleosome-binding specificity
Gohei Nishibuchi, Shinichi Machida, Akihisa Osakabe, Hiromu Murakoshi, Kyoko Hiragami-Hamada, Reiko Nakagawa, Wolfgang Fischle, Yoshifumi Nishimura, Hitoshi Kurumizaka, Hideaki Tagami and Jun-ichi Nakayama
Nucleic Acid Res. 42: 12498-12511 (2014)



遺伝子をほとんどコードしていないゲノム領域にはヘテロクロマチンと呼ばれる構造が存在し、この構造の形成には、ヒストン H3 の 9 番目のリジン残基のメチル化 (H3K9me) と、この修飾を認識する HP1 (Heterochromatin Protein 1) の働きが重要です。今回私たちは、哺乳類 HP1 α のリン酸化修飾が H3K9me ヌクレオソームに対する優先的な結合を促進しているという事を明らかにして報告することができました。このコラムでは、論文の内容よりもこの発見に至る経緯を中心に紹介したいと思います。

中山先生の異動に伴い一緒に名古屋に移り、そこで新たに着手した研究が、それまで中山研の研究員だった濱田さんが手掛けていた HP1 のリン酸化に関する研究でした。濱田さんは 2011 年に、哺乳類 HP1 α の N 末端側のセリンクラスターが細胞内で恒常的にリン酸化されていること、またそのリン酸化が HP1 α のクロモドメインによる H3K9me の結合を促進していることを明らかにしました (文献 1)。

一方、近年クロマチンを標的とするタンパク質の解析は、ヒストンのペプチドと部分的なドメインタンパク質を用いた解析から、タンパク質全長 (または複数のタンパク質からなる複合体) とヌクレオソーム (またはオリゴヌクレオソーム) を用いた、より生体内の状況に近い解析へとシフトしてきています。例えば 2011 年に Canzio 等は、分裂酵母の HP1 ホモログである Swi6 を用いて、そのクロモドメインが H3K9me ペプチドに対して高い結合特性を示す一方、全長の Swi6 を用いると、H3K9me ヌクレオソームに対して非常に低い結合特異性しか示さないこと、また、H3K9me を持つオリゴヌクレオソームに対しては Swi6 が高い特異性で結合できることを報告しました (文献 2)。当初私たちの興味は、HP1 のリン酸化がヌクレオソームへの結合にどのように寄与しているかどうかという非常にシンプルなものでした。

名古屋に移ってからちょうど 1 年、ラボの引っ越しや立ち上げに追われながら、細々と準備してきた材料集めに目処がたった頃、共同研究者である早稲田大学の胡桃坂研究室から再構成したヌクレオソームが届き、本格的に HP1 のリン酸化とヌクレオソーム結合の関係を検証することになりました。まず、Swi6 の論文と同様にゲルシフトによって HP1 α とヌクレオソームの結合を評価したところ、Swi6 と同じく HP1 α は H3K9me モノヌクレオソームに対する特異性が低いことが分かりました。もう少し細かく説明すると、HP1 α は未修飾のヌクレオソームに対しても非常に良く結合し、H3K9me ヌクレオソームにはそれよりも若干強く結合する程度でした。

実験系に問題ないことが確認できたので、次にリン酸化 HP1 α

を用いて同じ実験を行うことにしました。リン酸化 HP1 α は H3K9me ペプチドへの結合を強くすることがわかっていたので、当然ヌクレオソームでも同じことが起こるだろう、そう思いながら実験していました。ところが結果は、どちらのヌクレオソームに対してもほとんど結合しなくなるという全く想定外の結果でした。「そんなはずは無い」。これが、中山先生と一緒に結果についてディスカッションした時の二人の共通意見でした (結果的にお蔵入りになりましたが、この時のゲルシフトの結果を載せておきます [図 1])。

大腸菌内でリン酸化酵素と一緒に発現する系を用いて調製したリン酸化 HP1 α は、生体内でほとんど見られないリン酸化も同時に起きるという欠点がありました。そこで生体内と同じリン酸化状態を模した HP1 α (S97A 変異体) を用いてアッセイを行うことで、付加的なリン酸化の影響を排除すると共に、結果の再現性を調べることにしました。その結果、S97A 変異体であっても、H3K9me の有無に関わらず、ヌクレオソームにはほとんど結合しないという再現性のある結果が得られました。自分の手技的なミスでは無く、間違いなくクロモドメインの N 末端領域のリン酸化が原因であることが分かり、それまで自分のデータに対して懐疑的でしたが、次第にこの現象は生体内の状態を正しく反映したものではないかと思うようになりました。それを証明するために、HP1 α のアイソフォームである HP1 β を用いて同じ実験をしたところ、やはり HP1 β もゲルシフトではヌクレオソームとほとんど結合しないことが分かりました。その後、オリゴヌクレオソームやヌクレオソームを巻いている DNA 自身を用いてゲルシフトによる解析を行ったところ、やはり同様の結果が得られ、リン酸化による影響はオリゴヌクレオソームであっても同じであること、またこの現象には、HP1 α の DNA に対する結合が関与することが判明しました。

HP1 α がリン酸化されることによって DNA との結合が弱まるという現象自体は面白いものの、ネガティブな要因のデータばかりが蓄積するだけで、論文としてまとめる方向には一向に話が進みませんでした。この八方塞がりの状況が好転したのは、見落としていた一報の論文 (文献 3) を見つけた時でした。この論文では、ヒトの HP1 β とモノヌクレオソームの結合を調べ、モノヌクレオソームでも H3K9me に対しての結合特異性はあるという、Swi6 の論文とは異なる見解を述べた論文でした。そして、その評価方法の一つとしてゲルシフトではなく、ビオチン化した DNA を使ってヌクレオソームを再構成し、プルダウンによるアッセイを行っていました。これは良さそうな実験系だと思い、中山先生を通じて胡桃坂研の方々にビオチン化ヌクレオソームを調製してもらい、早速リン酸化 HP1 α との結合を試すことにしました。

最初にリン酸化されていない HP1 α を用いて行ったアッセイでは、若干 H3K9me ヌクレオソームに有意に結合するものの、結局どちらのヌクレオソームにも結合するという結果でした。ところが、リン酸化された HP1 α を用いたところ、H3K9me ヌクレオソームには効率よく結合できるが、一方で未修飾のヌクレオソームにはほとんど結合しないという、当初考えていた以上の結果でした (本論文の Fig. 2)。恐らく HP1 の H3K9me ヌクレオソームに対する HP1 の結合は一般的に思われているよりも弱く、安定な結合をみるゲルシフトのような実験は HP1 とヌクレオソームの結合を検証するのは不適切だったのだと考えられます。

興味深いことに、ショウジョウバエや分裂酵母など他の生物種でも、HP1 がリン酸化されていることが知られています。実際に同じ系を用いて、分裂酵母とショウジョウバエの HP1 をリン酸化してヌクレオソームとの結合を調べたところ、リン酸化が入ることにより H3K9me ヌクレオソームへと優先的に結合できることが分かりました。わざわざリン酸化するという一見無駄なことをしていますが、進化的にとてもよく保存されたシステムであると言えます。

以上の結果などを踏まえ、HP1 は α のように翻訳後すぐリン酸化される方法か、 β のように進化の過程でリン酸化の代わりに酸性アミノ酸残基の割合を多くする方法で、DNA との親和性を下げ、優先的な H3K9me ヌクレオソームへの結合を可能にしていることを明らかにすることができました (図 2)。指導してくださっ

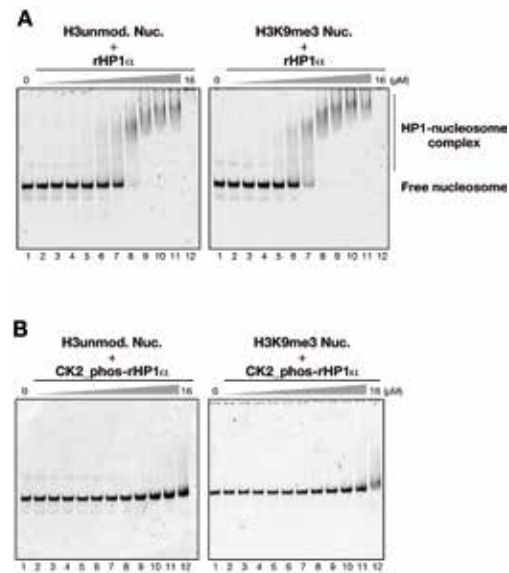


図 1 再構成ヌクレオソーム (未修飾、H3K9me) と HP1 α (A: 非リン酸化、B: リン酸化) の結合をゲルシフトで評価した結果。

た中山先生はもちろんのこと、共著者の先生方、特に多くの研究試料を提供してくださった胡桃坂研究室の方々に、この場を借りて深くお礼申し上げます。

これまで調べた限り、HP1 α の N 末端側は細胞内で恒常的にリン酸化されており、ダイナミックな制御を受けているようには見えないので、リン酸化による HP1 の動的制御というような話に発展することは、現時点では無いように思われますが、今回の研究によって HP1 によるヌクレオソームへの結合特異性に関するちょっとした論争に終止符を打つことができたのではないかと考えています。また、他の現在知られているクロマチン結合タンパク質でも、翻訳後修飾がクロマチンへの適切な結合に重要なのではないかと考えています。

余談ですが、今回の論文の査読は非常に好意的であり、ほとんどノー・リバイズで論文が受理されました。特にレフリーの 1 人に "This is an excellent study." と言われたことには感慨深いものがありました。最初に見たときに『そんなはずは無い』と考えるようなデータの中にも、素晴らしい研究の種が眠っているということを、今回の研究を通して教えられたような気がします。

参考文献

- (1) Hiragami-Hamada, K., et al. *Mol Cell Biol.* (6):1186-200 (2011)
- (2) Canzio, D., et al. *Mol Cell.* (1):67-81 (2011)
- (3) Munari, F., et al. *J Biol Chem.* 287(40):33756-65 (2012)

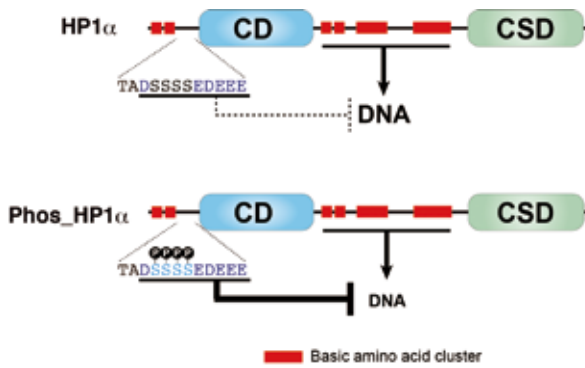


図 2 HP1 α のリン酸化と DNA 結合の関係

研究成果の紹介

ファンconi貧血蛋白質 FANCD2 が制御するもう一つのヌクレアーゼ：新規会合分子 CtIP の同定

高田 穰

京都大学
放射線生物研究センター
晩発効果研究部門
DNA 損傷シグナル研究分野FANCD2 binds CtIP and regulates DNA-end resection during DNA interstrand crosslink repair.
Unno J, Itaya A, Taoka M, Sato K, Tomida J, Sakai W, Sugasawa K, Ishiai M, Ikura T, Isobe T, Kurumizaka H, Takata M.
Cell Rep. 22;7(4):1039-47. (2014)

今年5月、上記論文を Cell 誌の姉妹誌でオープンアクセスジャーナルの Cell Reports に出しました。論文の内容については、小林班の領域会議で繰り返しお話していますので、耳たこの方もいらっしゃるかもしれませんが、簡単に内容を紹介し、少し裏話をしてみたいと思います。

私の分担課題は、複製ストレス下での複製フォークの安定性と非コードゲノム配列の関連性について扱っています。複製ストレス応答には様々な因子が関わるわけですが、我々のラボでは、まれな小児の遺伝性血液疾患「ファンconi貧血」に関連した DNA 修復経路に着目し、特にそのキー分子である FANCD2 について検討しています。従来、FANCD2 のモノユビキチン化の機構とその下流分子機構を解明するため、FANCD2 に会合する分子の同定を様々な試みてきました。

だいぶ前のことですが、2003 年、まずニワトリ DT40 細胞の FANCD2 ノックアウトにタグ付き FANCD2 を発現させ、FANCD2 複合体の精製を試みました。この時の preparation は一応きれいには取れましたが、はかばかしい成果にはなりませんでした。その後、2007 年京大放生研に移ってから、今回論文の co-author でもある首都大学東京の磯辺教授らの協力を得て、ポストクの板谷亜希子さんがいろいろ免疫沈降を試みてくれましたが、精製度がいまいちのせいか残念ながらマスマスペクトロメトリーがあまりきれいに動きませんでした。

そこで、DT40 をあきらめて、井倉毅先生が放生研に参加された機会に、彼の指導で、ハーバード大中谷研究室で確立された複合体精製法を導入することにしました。板谷さんががんばってタグ付きヒト FANCD2 を HeLa S3 細胞に発現させ（井倉先生によれば、FANCD2 は 150 kDa 程度ですが、いままでこの系で発現できた最高サイズだそうです）、富田さん（現在アメリカ Rick Wood 研に留学中）の協力もあり、ついにきれいな複合体精製に成功しました。磯辺研の田岡先生から返されたマスマスベックの結果を見たとき、RBBP8 が何を意味するかぱっとはわかりませんでした。これが CtIP 分子の別名であることに気づいたら、たちまち論文のストーリーが出来ました。その後板谷さんは子供さんができてラボを離れ、後任で医科歯科大・水谷修紀先生のラボからやってきたポストクの海野さんが、ウェスタンや免疫染色の腕を発揮して続きのデータのほとんどを取ってくれました。

ストーリーは単純ですが、複雑なクロスリンク修復機構を説明する必要があります（図）。マイトマイシン C などの DNA クロスリンク損傷に両側から複製フォークが衝突する（ダブルフォーク衝突モデル）と FANCD2 がモノユビキチン化される。モノユビキチン化 FANCD2 は、SLX4-XPF 複合体をリクルートして DNA のストランド間のクロスリンクの両側に切断を入れる。この切断は結果として、クロスリンクを「unhook」し、停止していたポリメラーゼは損傷乗り越え型にスイッチして DNA 合成が進行する。残存するクロスリンクはヌクレオチド除去修復で除去されると考えられています。あとに残った DNA 二重鎖切断は、相同組換えで修復される必要がある。Rad51 がポリメライズするには、一本鎖に resect されるはずで、そのために必須な CtIP を FANCD2 がその場に呼び込んでいるというのが、この論文のポイントです。そのために、どうやら、CtIP はユビキチンに直接結合することができ、未同定のユビキチン結合ドメインを持つらしいこともわかってきました。

海野さんがデータを取り始めて少ししたころ、放生研の国際シンポジウムにスイスから Alex Sartori が招待されて京都にやってきました。彼は Steve Jackson 研でヒトの CtIP がリゼクションに機能することをつきとめ、Nature 論文を出した研究者です。ひょっとして FANCD2 と CtIP の関係について気づいて解析しているのではないかと考え、聞いてみるとやはり解析中でした。その後はお互いに連絡をとりあい、back-to-back で論文を出そうということになりました。多少の紆余曲折がありましたが、互いのデータがよく一致することが確認され、CtIP とユビキチンの会合も二つの研究室で検証できました。

これを Mol Cell に投稿すると、かなりいいレビューが返ってきて、行けるかと思いましたが、結局、ユビキチンの結合ドメインが最終的に詰め切れずリジェクトになりました。Mol Cell でのリバイズ期間中、ヒューストンのファンconi貧血国際シンポジウムで発表したところ、ミネソタ大の Sobeck らが同じような結果を持っていることがわかり、こちらが先行しているので安心していましたが、なんと彼らは急いで Hum Mol Genetics に類似論文を出してしまい、一方我々はリジェクトになって冷汗をかきました。幸い Mol Cell エディターが Cell Reports はどう？と斡旋してくれ、少し短くさせられましたが、無事 Alex らと共にアクセプトされました。

今回の論文での教訓は、

1. うっかり早めに発表すると痛い目にあう。
2. Cell Reports が拾ってくれてありがたかったが、掲載料は目玉が飛び出る値段。セルプレスは商売がうまい。

この論文が出たとき、幾人かの海外の知り合いからおめでとうメールが入り、みているんだなとうれしく思った次第です。しかし、本質的な発見者の板谷さんの筆頭で論文が出せなかったのは痛恨の極みです。

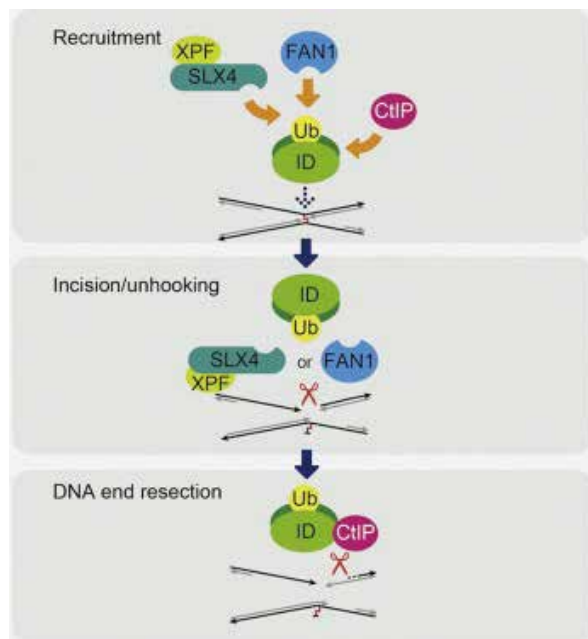


図 ユビキチン化された FANCD2/FANCD1 複合体はゲノム上のクロスリンクを認識し、少なくとも2種類のヌクレアーゼ（SLX4-XPF 複合体と FANCD1）を呼び込む。今回、CtIP が FANCD2 によるリクルートメントを受けることを明らかにした。前2者はクロスリンクを切断(unhooking)し、その後 CtIP が end resection に働くと考えられる。

The 9th 3R Symposium 2014年11月17～21日 (Replication, Recombination, Repair)

中川 拓郎 大阪大学大学院理学研究科

第9回目を迎えた今回の3Rシンポジウムは本新学術領域の小林武彦教授（国立遺伝学研究所）がChairを務められて御殿場高原ホテルで開催されました。口頭発表が96演題、ポスター発表が123演題と非常に盛況なシンポジウムとなりました。開催期間中は天候にも恵まれ素晴らしい秋晴れでした。エクスカージョンで散策した箱根や御殿場やホテルからも美しい富士山を拝むことができ（写真）、海外からの研究者らも富士山を見ながら美味しそうに箱根の温泉卵を召し上がっていました。

今回のシンポジウムの副題：3R and Beyondにもあるように、複製、修復、組換えの最新の研究発表に加え、それらの枠組みを超えた次世代の研究に繋がるような発表も多く見られました。海外

の研究者では、Rothstein 博士（コロンビア大学）が二倍体酵母を用いた解析から、DNA に二重鎖切断（DSB）が生じたとき、切断された染色体に加えて他の染色体の核内モビリティも増大することを発表されました。細胞核内の染色体局在やモビリティの制御は3R全ての領域にまたがり、今後の研究の広がりが期待されます。また、Kunkel 博士（NIH）はリボヌクレオチド NTP の細胞内濃度がデオキシリボヌクレオチド dNTP よりも高いために、想像していたより多くのリボヌクレオチドがDNA鎖に取り込まれることを発表されました。リボヌクレオチドの取込とその除去は、DNA複製にとどまらず修復や組換えのメカニズムを理解する上でも重要です。最後に、Gasser 博士（FMI、スイス）はチェッ

クポイント応答に働く Mec1/ATM キナーゼが PP4 ホスファターゼと物理的に相互作用することを発表されました。真逆に働くリン酸化酵素と脱リン酸化酵素との結合は、様々な反応経路の選択や調節を考える上で示唆に富む内容であると思われます。

3Rシンポジウムは日本国内に居ながら世界のトップレベルの研究者が集う刺激的な研究発表の場であり、国内開催の国際シンポジウムの中でも非常に成功している例の1つであります。今後も3Rシンポジウムが進化、発展し続けることが、若い世代を始め多くの研究者の励みになると思います。尚、紙面の都合上、興味深い研究発表を全て紹介できなかったことをお許し下さい。



新学術領域 「ゲノムを支える非コード DNA 領域の機能」第7回領域会議

平成25年7月14～16日（於 湯河原温泉ホテルあかね）

本新学術領域の第7回領域会議が、7月に湯河原で開催されました。

本領域会議は、本年度新しく加わった15人の公募班のメンバーが初めて参加して行われた会議となりました。計画研

究のメンバーは現在までの進捗状況を、また新しい公募班のメンバーは今後2年間の計画を発表しました。湯河原で領域会議を主催していただいた舩本先生、また会議の運営で尽力していただいた舩本研究室の方々、大変お疲れ様でした。



田舎での研究暮らし

舩本 寛 かずさDNA研究所 先端研究部 細胞工学研究室

先週末はアクアラインマラソンだった。天候にも恵まれ、「海ほたる」のジャンクションやその手前の海上高速道の上り／下りのスロープは、色とりどりのユニホームを着たランナーであふれかっていた。この光景は、テレビのニュースで見ただけでは惜しい気がした。普段車が走るアクアラインしか見たことのない地元民に取っても新鮮で平和な光景に映った。「吉川君！」で古い方にはおなじみの知事も大いに満足そうであった（これもニュースで）。一方、この私と言えば、その日はマラソンに参加どころか、途切れることなく次々に走って行くランナーをアパートの窓から時折ちらっと眺めていただけであった。私のアパートはマラソンルートに遠巻きに囲まれており、実はこの日、交差点ごとの道路封鎖でほぼ閉じ込められた状態であった。10時前に素早く行動しておけば良かったのであるが、日曜の朝のんびりしているうちに気が付けば封鎖が始まっていた。こんな私でも実は週1回だけジョギングをする。と言っても毎朝7 km全力で疾走する某M先生に比べたら、全くお恥ずかしい、私のは歩いているのにほぼ等しい。週末に5 kmほどゆっくり田んぼと里山の周りを回るだけである。それでも、その日ぐらいは結構満足気分に浸れ、ポカリスエット1本で十分休日のリフレッシュになる。

田舎の中学生は素朴で元気が良い。数人のグループならまだ恐れることはない。だが運悪く女子テニス部の集団に畦道で出会うと、思わず緊張が走る。遠くに大集団を発見してしまうと他に逃げ道はないか探す、露骨にルートを変えて脇に入っていくのも何処か変なので、そのまま進むことになる。まっすぐぐちゃっと下を見ながら走る。先ず先頭のキャプテンが良く通る声で「こんちわー」と笑顔で挨拶してくれる。こちらも「こんにちわー」とおすおすとお返しするのである。しかし、それが大集団の一人一人が時間

差で次々に挨拶してくれるのである。彼女達は一人一回だけよいのだが、私の方はその間中、「ああ、こんにちわー」を集団が行き過ぎるまでひたすら繰り返すことになる。思わずニヤニヤ笑えてしてしまう。が、「ええ歳のおっさんが結構勘違いされとるでー」と思い直し、行き過ぎる頃になってまた顔をこわばらせる。

ここら辺りは早稲が主流なのか、8月の末には稲刈りも終えてしまう。ところが、刈り株からまためげずに次の稲葉を出す。更に今では小さな穂までつけている。ちぎって見ると籾の中に多少頼りないが小さな米粒らしきものまで出来上がっているのには驚く。こんなひたむきさには思わず拍手したくなる。これから春まで枯れた田んぼの風景が続くが、霜の降りた田んぼの風景もまた良い。朝霜の田んぼ、これに差し込む太陽の光、立ち昇る湯気（もや？）、こんな光景に年にほんの数日だが、冷え込んだ朝出会える。いつかはこれをカメラに収めたいと思っているが、こちらの方は朝遅刻すまいと車を走らせる途中での光景なので、なかなか難しそうである。

3月後半頃から耕耘機で耕し始め、水を張るとまた田んぼの景色が一変してくる。この時期のもう一つの楽しみは、冬枯れていた里山の木々の枝先がほんのりピンク色に色づき始め、次にありとあらゆる薄黄緑や淡いピンクに染まり始める1週間の美しさである。多様な木々が混じり合う雑木林が日に日に色を変えて行く光景は田舎の春に素朴な喜びを与えてくれる。それから暫くすると田植えが始まる。ちょっと暖かく感じられるようになればカエルの大合唱が夏まで続くことになる。この時期研究所からの帰り道は車の窓を開けて大合唱を聞きながら走る。そういえば最近までうちの研究室にいたH君は実はカエル博士でもあり、彼はこれで学位を取ったらしい。鳴き声

で種類どころか、どの地方の方言かまで聞き分け出来るのだそうで、これも驚きである。彼が真顔で語るので信じることにしているが、カエルに方言があるのか自分では聞き比べたことはないので実のところ本当かどうかは不明である。以前信州に行った時、鳥（オオルリ）も微妙に鳴き方が違うことに私も気が付いた。ところが最近になって若鳥は明らかに鳴き方が下手であることも分った。あの鳥は若鳥であった可能性の方が高い。H君は、ヒトMHC遺伝子を載せた人工染色体を保持するマウスを作り、8世代経てもヒトMHC遺伝子の組織特異的な発現が続くことを調べ上げた。最近この成果をまとめた論文を「染色体」の名を冠した伝統誌から出すことが出来た。C社のO先生、Iさん、他との共同研究。H君は実力が評価されて他の研究部へご栄転。努力が実って良かった。

この辺りは、田んぼと里山がひたすら繰り返す風景が続くためか、ウグイスがやたら多い。春になると至る所で鳴き始める。4月後半になるとホトトギスが夏まで清々しい声で「てっぺん禿たか？」いや失礼、「東京特許許可局」と、これもあちこちで鳴いてくれる。鳴き声だけでは何年も楽しませてもらっていたが、実際にその姿を見たことはなかった。ある週末畦道をジョギングしていると里山のあちこちからホトトギスの声が聞こえてくる。鳴き声の聞こえる方向からするとそのあたりの田んぼを囲む里山だけでも3-4羽で縄張り争いをしているような気配である。今日は絶好のチャンス！とアパートに戻って双眼鏡とカメラ（でも、実は広角側のレンズ1本しか持っていない）を掴んで引き返した。鳴き声の方向を遠くから双眼鏡で覗くのだが、こっちか、いやあっちかと、ひたすら眺めていても一向に見つけることができない。日も傾き始め、今日もだめかと諦めて帰ろうとした、その時、直ぐ後ろの木のとっぺんに唐突に姿を現した。図鑑の通



ホトトギスはどこでしょう？

り、胸は白黒段がらで翼から背中にかけてグレー、何となく翼が下がってちょっとだらしない感じだ。目は図鑑よりずっと赤いことまでじっくり観察できた。写真も撮れるかなとカメラを構えたら飛んで行ってしまった。声の方向から3-4羽はいそうな気配ではあったが、いつも同時ではなかったことにその時になってやっと気が付いた。一羽が森の中を飛び回って、あっち、こっちと鳴きながら縄張りを主張していたようである。ちょっと満足な気分になりながらの帰り道で、それにしてもこの地にはなぜこんなにホトトギスが沢山いるのかと、こちらに来て以来ずっと不思議に思っていたもう一つの疑問も解けた。そう言えば、ホトトギスはウグイスに托卵するのであった！自分より遙かに大きい雛にせっせと餌を運ぶウグイスの姿をいつかは是非この目で見てみたいと思っている。

これもまだこちらでははっきり姿を見えないが春から夏までは里山の森からオオカキの声らしきものも聞こえてくる。真夏に汗びっしょりになりながら青青と稲葉が茂る田んぼの畦道をゆっくり走るの、ちょっとくらくらするがそう悪くない（その後のビールがまた格別に旨い！）。この頃になるとまた糖を出して、次はまた稲刈りの季節が始まる。暫くするとすっかりきれいに刈り取られた田んぼの土手を数日間だけ彼岸花が鮮やかに赤く染める。この畦道をゆっくりジョギングするのもまた楽しい。この春まで数年間研究室がお隣であったYさんと飲んだとき、この地の里山と田んぼ風景を論じたことがある。Yさんとはいろいろ話が合うのだが、私よりずっと若い世代で都会を好むYさんには里山と田んぼ風景は全く受けないようだった。もったいない気がした。

追記：中山さんに半年前から計画的に追い詰められて遂に逃げ果せなくなって記事を書き始めた。思いつくままかずさの田舎風景を書き終えて、何か写真でもなかったかと捜しているうちに、そう言えばホトトギスを見に引き返した時、姿は見えずとも声を頼りに何枚か写真を撮ったのを思い出した。顕微鏡写真でもセントロメアの一点一点に焦点が合っていないと気が済まない性格なので、田んぼと里山の風景の写真ぐらいには使えるかなと拡大してみた。双眼鏡であれだけ探しまわっても見つけれなかったのに、拡大して見ると何と写真にはホトトギスらしき点が写っているではないか！改めて自分の目の衰えを感じさせられた。

新学術領域研究「ゲノムを支える非コード DNA 領域の機能」今後の予定

2015 年	2 月	市民公開講座ーゲノムの調べ（横浜） 第 8 回領域会議（担当：加納）
	7 月	国際シンポジウム「インターメアによる染色体制御機構」（担当：中山・高田・加納） 第 9 回領域会議（担当：中山）
2016 年	3 月	終了国内シンポジウム「インターメアによる染色体制御機構」（担当：小林） 第 1 0 回領域会議（担当：小林）
（実施月は目安）		

編集後記

まず、今回原稿を寄稿していただいた領域関係者の皆様どうも有り難うございました。本年も残すところあとわずかですが、このニュースレターが皆様のお手元に届く頃には、衆院選の結果が出ていることでしょう。今回選挙のことを考えていたら、科研費による研究と政治、少し似ているところがあるように思われました。例えば、研究申請はマニフェスト、研究申請の採否は選挙、3～5 年の研究は政権運営、その後識者（国民）による評価。そしてもし不正が露見すれば研究者（政治家）人生はたいてい終わりです。残念ながら現時点では、各政党の科学技術推進に関する意見は聞こえてきませんが、日本の科学技術の将来、特に若い研究者を育てるという事を重視してくれる政権になってくれれば良いと願っています（J.N.）。

ncDNA

N E W S L E T T E R



「ゲノムを支える非コード DNA 領域の機能」

文部科学省科学研究費補助金 新学術領域研究（研究領域提案型）

新学術領域研究

「ゲノムを支える非コード DNA 領域の機能」ニュースレター 第 7 号

2014 年 12 月 発行

編集人 中山 潤一

発行人 小林 武彦

発行所 名古屋市立大学大学院 システム自然科学研究科

中山研究室

TEL / FAX : 052-872-5866

E-mail : jnakayam@nsc.nagoya-cu.ac.jp

領域ホームページ

<http://www.nsc.nagoya-cu.ac.jp/~jnakayam/ncDNA.html>