

# ゲムを変化させる遺伝子増幅

小林武彦

総合研究大学院大学助教授基礎生物学専攻 / 自然科学研究機構基礎生物学研究所助教授

染色体には、ゲムの安定とゲムの変化の両方をもたらす仕組みが備わっている。ゲムを動的に変化させ、進化の原動力ともなりうる遺伝子増幅の詳しいメカニズムが明らかにされつつある。

ヒトの体は約60兆個の細胞からなっている。たった一つの受精卵が分裂を繰り返して、組織や器官を形成していくのである。次の世代に命をバトンタッチするための生殖細胞も細胞分裂によって作られる。

細胞分裂のたびに、細胞の核に含まれる染色体は正確に複製され、すべての細胞に染色体のもつ遺伝情報（ゲム）が共有されていく。生物は、このようにゲムを安定に維持していく一方で、ゲムを変化させて進化も遂げてきた。こうしたゲノムの不変性と可変性は、生命現象といかにかかわっているのだろうか。

## 染色体の変化を修復する仕組み

ゲノムは、染色体を構成するDNA分子の塩基の並び方で表される。染色体は、そのDNAを変化させるような危険に常にさらされている。たとえば、太陽から

降り注ぐ紫外線や放射線がある。これらはDNAに物理的な傷を与えたり、あるいは、化学的な変化を引き起こしたりし、遺伝情報の狂い、つまり変異を生じさせる。運悪く癌抑制遺伝子や後述するチェックポイント関連遺伝子などの重要な遺伝子に変異が起ると、癌や細胞の異常が引き起こされる。

しかし生物には、このような変異を抑制する仕組みが備わっている。通常、DNAに生じた傷は、DNA修復酵素という修理屋のような酵素に発見され、直ちに修復されて事なきを得る。変異の原因としては、紫外線、放射線以外にも、細胞内に発生する活性酸素や、ある種の化学物質などが知られている。

## 複製のトラブルに対処する仕組み

DNAを変化させる原因は、細胞の内部にも存在する。それは染色体の複製

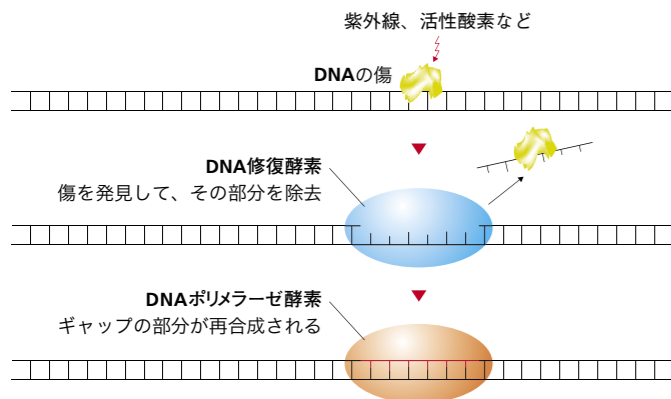


図1 染色体DNAの傷を修復する仕組み  
DNAは紫外線や放射線、活性酸素、ある種の化学物質により傷害を受ける。その傷は、修復酵素の働きにより修復される。

時に起こるトラブルである。細胞分裂に先立ち、ヒトでは約30億塩基対のDNAが複製されるが、そのときに、「エラー」が生じる可能性がある。

DNAの複製では、まずDNAの二重らせんがほどかれて、いわゆる複製フォークが形成される。そしてDNAポリメラーゼという酵素の働きで、DNAに相補的な塩基が次々とつなぎ合わされていく。この酵素は非常に正確で、通常エラーが起こる可能性はかなり低いが、ゼロというわけではない。また老化などにより、DNAの塩基が修飾を受けると、エラーの頻度が上昇する。

複製のトラブルには、別なタイプのもも存在する。それは、DNAポリメラーゼが途中で前に進めなくなる事態で、それにより複製反応が終了しなくなる（複製障害）。この主な原因となるのは、修復が間に合わずに残ってしまったDNAの傷や異常な構造である。その位置で、ジッパーが開かなくなるようにして、複製の反応が止まる。複製が止まると、細胞分裂も止まってしまう。

このトラブルが生じたときにも、生物にはそれに対処する仕組みが備わっている。まず複製が停止した地点で、自らのDNAを切断する。そして、相同なDNA配列をもつ姉妹染色分体間で組換え反応を引き起こし、少し手前から複製を再開するのである。引がかかったジッパーを少し戻して勢いをつけて再トライするよ

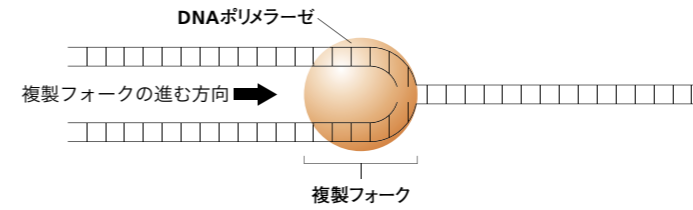


図2 複製反応の仕組み  
複製開始点の二重らせんがほどけて、両方向に複製が進む。複製を行っているY字型の部分を複製フォークと呼ぶ。複製フォークでは、DNAポリメラーゼ（図には示していない）が二重らせんを次々にほどき、DNAポリメラーゼ酵素が、鋳型DNA（ほどけたDNA）に相補的なヌクレオチドを次々とつなぎ合わせていく。こうして、まったく同じ2本のDNA鎖（姉妹染色分体）が形成される。

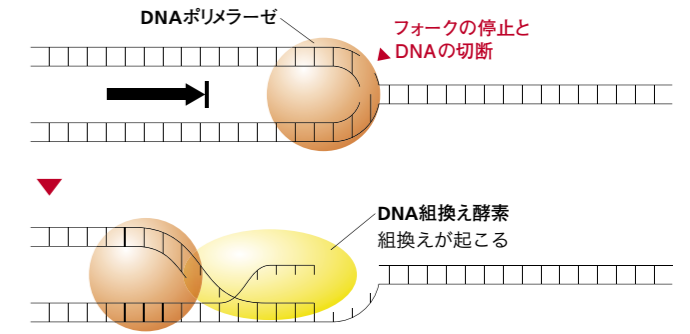


図3 複製トラブルに対処する仕組み  
DNA複製が途中で停止すると、DNAの切断が起こり、次に、姉妹染色分体との組換えが起こって、複製フォークが再生され複製が再開される

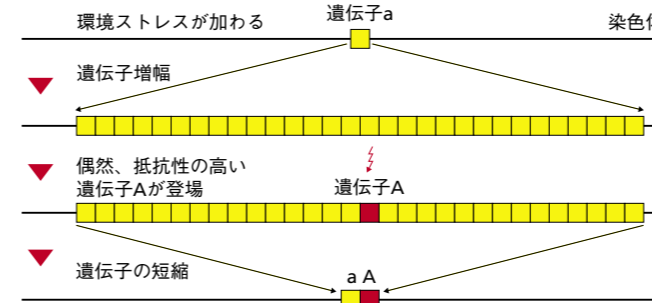


図4 遺伝子増幅と進化  
あるストレスに対して弱い抵抗性を示す遺伝子aが増幅し、その産物量が増え、耐性を獲得する。そこに偶然に変異が起こって、抵抗性のより強い遺伝子Aが生じる。増幅した遺伝子aは不要になりコピー数が減り、遺伝子aと遺伝子Aが残る。このように似た遺伝子（ファミリー遺伝子）の増加により、環境変化への抵抗性や個体の複雑な構造などが進化してきた。

うなものである。

## 不変性と可変性の両方を維持する

染色体DNAは、常に変化を受ける危険にさらされているが、上述したように、修復や組換えといった機構により安定に維持されている。ゲノムは個体のアイデンティティーを決定する設計図であり、容易に変わってもらっては困るのである。

しかし、生物を取り巻く環境は常に変化し、それに適応しながら生きていくための柔軟性も必要となる。この環境変化に対する適応を長い目でとらえると、進化という形になって現れる。

近年、多くの種でゲノムプロジェクトが進展し、得られた配列を解析することで、ゲノムに起こった過去の変化の跡をうかがい知ることができるようになってきた。その一つとして、DNAの変化を促進させる遺伝子増幅が観察されている。これは文字通り遺伝子のコピー数が増える現象であり、もともと存在する遺伝子を壊すことなく、付加的に新しい遺

伝子（ファミリー遺伝子）を作り出すことができ、進化の原動力になってきたと考えられている。

身近な例では、害虫に対して殺虫剤が次第に効かなくなってくるのは、殺虫剤に抵抗性を示す遺伝子が増幅し、耐性が増したためである。さらに、増幅により遺伝子の数が増え、自由度が増し、変異の起こる確率が上昇すると、新しい遺伝子が生み出されやすくなる。

たとえば、生物に新たなストレス（気温の上昇など）が加わると、それに多少の抵抗性をもつ遺伝子が増幅する。増幅により遺伝子産物の量が増えて、耐性が得られるようになる。そのうち偶然に、その増幅した遺伝子のなかで抵抗性をより強くするような変異が起きて、新たな遺伝子の出現がもたらされるといった具合である。

## 遺伝子増幅の詳しいメカニズム

実際に、遺伝子の増幅はどのように起こっているのだろうか。筆者のグループが研究しているリボソームRNA遺伝

子（rDNAと略す）の増幅機構について紹介したい。

リボソームはタンパク質を合成する装置で、細胞内に最も多量に存在する構造体の一つである。そのためリボソームの主要な構成成分であるリボソームRNA（rRNAと略す）を作る遺伝子であるrDNAも、染色体中に多くのコピーが存在する。

筆者らが研究で用いている出芽酵母は、約150個のrDNAを染色体上に有する。おもしろいことに、人為的にそのコピー数を半分以下に減らしてやると、遺伝子増幅が起こり、また元の150個に回復する。この現象を利用して、どのようなタンパク質が増幅に必要なかを調べると、DNAの複製を阻害するタンパク質（Fob1）と、組換え酵素の一種（DNAの二本鎖切断を修復する酵素群）が働いていることが判明した。

以上のことから、rDNAの増幅機構について、筆者らはあるモデルを提唱している。DNAの複製反応は、染色体に存在する複数の複製開始点から開始する。前述したように、まずDNAの二重らせ



図5 出芽酵母のrDNAの構造  
rDNAは12番染色体の約60%を占めるほど、多コピーが存在する。35S rDNA（大）と5S rDNA（小）の2種類のrDNA遺伝子が交互に存在し、その間に、複製開始点と複製阻害点がある。複製阻害点には、Fob1タンパク質が結合する。

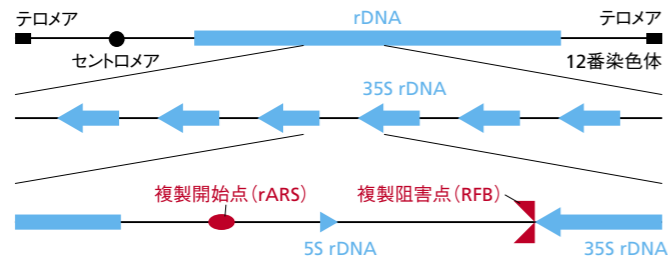
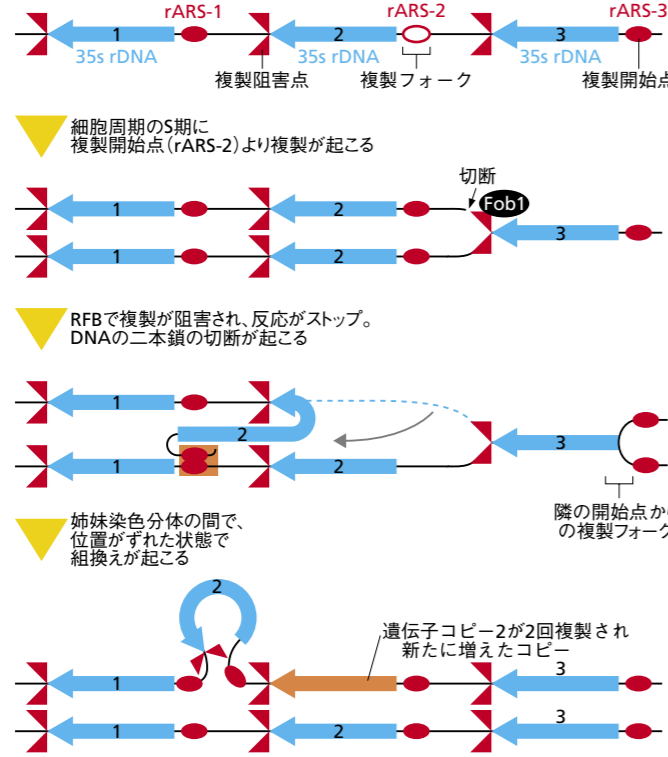


図6 リボソームRNA遺伝子(rDNA)の増幅メカニズム  
図をわかりやすくするため3コピーのrDNAのみ示した。複製開始点5個につき一つの割合で複製が開始する。図で右方向に起こる複製反応は、Fob1が結合している複製阻害点(RFB)で止められる。遺伝子を示す矢印の向きは、rDNAの転写の方向性を表す。遺伝子の番号は同一の遺伝子コピーを示す。



ん(二本鎖)がほどこかれ、複製フォークが形成されて、新しいDNA鎖が合成されていく。この複製反応は、各複製開始点から染色体上を両方向に進行する。

Fob1というタンパク質には極性があり、一方向のみの複製反応を阻害する。Fob1は染色体上の複製阻害点と呼ばれる場所に結合して、図6では右方向に進む複製反応をそこでストップさせる働きがある。すでに説明したように、複製が停止すると、DNAの切断が起きる。そして、姉妹染色分体の相同な場所との間でDNAの組換えが起こり、複製反応が新たに再開する。

ところがrDNAの場合、同じ遺伝子コピーがたくさん存在するので、相同な場所が多数あることになり、組換えの場所にずれが生じる可能性がある。すると、逆方向(図6では右方向)からの、つまり

隣の複製開始点からの複製反応(Fob1で止められない)により、一度複製されたDNA部分が再度複製され、遺伝子の増幅が引き起こされるというわけである。

### 遺伝子増幅の制御と癌

遺伝子増幅が生物にとって厄介な問題を引き起こすこともある。その最たる例が、癌である。発癌という過程はいくつかのステップからなるが、その一つは、細胞増殖にかかわる遺伝子の発現が上昇することである。癌細胞が正常細胞よりも増殖速度が早いのはそのためである。この発現上昇は多くの場合、遺伝子増幅によって引き起こされる。

有名な例としては、多くの癌で*c-myc*と呼ばれる細胞増殖にかかわる遺伝子が増幅している。増幅の度合い(*c-myc*遺伝子のコピー数)によって、悪性度が増す。

本来細胞には、ゲノムの異常を感知するチェックポイントという制御システムが備わっているが、癌化の初期の段階でこの機能が壊れ、細胞にとって有害な遺伝子の増幅が許容されるようになるのである。また癌治療には制癌剤を用いるが、制癌剤に対して抵抗性をもつような薬剤耐性遺伝子が増幅されると、制癌剤の効果も阻害されるようになって考えられている。

以上、ゲノムの不変性と可変性について述べてきた。酵母のような単細胞生物では、変異、環境適応、進化が一連の反応として進行するが、ヒトをはじめとする多細胞生物では、細胞間秩序を維持する必要があり、変異は厳密に管理、制限される必要がある。

昆虫の卵の殻を作るコリオンと呼ばれるタンパク質がある。コリオン遺伝子は、卵巣の濾胞細胞でのみ遺伝子増幅を起こして、多量のコリオンタンパク質を供給している。またヒトの免疫細胞では、発生の初期にゲノムのランダムな組換えが起こり、抗体タンパク質の多様性が獲得されている。このように、局所的(組織特異的)な増幅や変異は、おそらく他にも多数起こっており、今後その実態が徐々に解明され、ゲノムの可変性の研究がさらにおもしろくなってくると筆者は期待している。



小林武彦(こばやし・たけひこ)  
生命のデザインを決めるゲノムには、われわれの英知を超えた機能性と美しさが秘められている。その魅力に魅せられて、日々実験を繰り返す。夢はゲノムに隠された未知の法則を見つけ出し、生命を考えるヒントを子供たちに教えてあげること。趣味は浜辺の観察と演劇鑑賞。

# テロメア研究の今:末端の複製は危険な橋

松浦 彰

国立長寿医療センター研究所老年病研究部感覚器疾患研究室長

ほとんどの真核生物では、染色体末端のDNAは反復配列からなり、塩基の短い配列が何度も繰り返されている(ショウジョウバエなどの一部の真核生物を除く)。この反復配列にタンパク質が結合して、テロメアという特徴的な高次構造が形成される。テロメアは、染色体末端部の複製や保護、さらには染色体の核内での配置に関連している。

### 末端複製問題とテロメラーゼ

線状の染色体では、末端部を複製するのに、通常は複製酵素(DNAポリメラーゼ)だけでは完全に行えない(いわゆる末端複製問題である)。なぜならこの酵素は、複製を始めるために「プライマー」という短いRNA配列を必要とするからである。このRNA配列が、まずDNA鎖に結合し、そこから新しいDNA鎖が合成され、最終的にRNA部分がDNAに置き換わって、複製が完了する。しかし、染色体の最末端のRNA部分はDNAに置き換わることができず、このため複製のたびに染色体は短縮してしまうのである。

テロメラーゼという酵素は、こうした末端複製問題の解消のために、染色体末端に数塩基単位の配列を新たに付加することができる。ただし通常の細胞では、テロメラーゼが発現されず、細胞分裂のたびに染色体は短縮する。テロメアの反復配列は、祖先の細胞で、テロメラーゼにより配列が付加された痕跡である。

細胞を培養した場合、一定の分裂回数を過ぎるとそれ以上分裂しなくなる。この現象を細胞老化と呼ぶ。ヒトの正常細胞でみられる細胞老化は、テロメラーゼ活性をもたない細胞が分裂を繰り返すことにより、染色体末端が短縮し、正常な染色体末端としての構造に異常が生じ、その結果、損傷した末端として細胞に認識されてしまうことが一因であると考えられている。

### テロメア末端と損傷末端の区別が重要

染色体はさまざまな要因により損傷を受ける危険性にさらされている。なかでも最も深刻な傷はDNA二本鎖の切断である。そこで、損傷末端が生じると、修復装置の働きでそれらは直ちにつなぎ直される。一方、正常な染色体末端はそのままの状態でもたれる必要があるため、損傷末端と正常末端は厳密に区別されていなければならない。

哺乳類の場合、テロメアを構成するタンパク質のなかにshelterinと呼ばれるタンパク質複合体がある。テロメアDNAは特徴的な立体構造を形作り、その端の部分はループになっているが、shelterinは、そのループ構造の形成に関与している。ループ構造は、損傷を感知する細胞の分子装置から、正常末端を「隠す」働きをする。それにより、正常末端が損傷末端と区別されるのである。

### テロメアを保護する構造が消える時期がある

最近、正常末端を損傷末端と区別するテロメアのループ構造が、細胞周期を通じて常に維持されているのではないことがわかってきた。出芽酵母におけるテロメア複製の分子機構の解析から、テロメア末端の複製に、損傷修復にかかわる因子が必要であることが知られている。筆

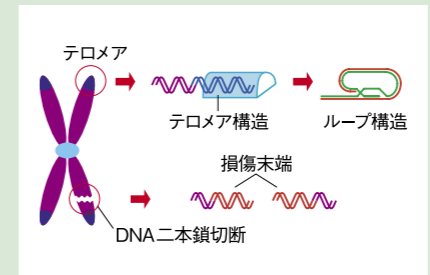


図1 正常末端(テロメア末端)と損傷末端との違い  
染色体の正常末端には特異的なタンパク質が結合してテロメア構造が構築されており、損傷で生じる二本鎖切断末端と区別されている。

者らはクロマチン免疫沈降法という高感度のタンパク質-DNA相互作用検出法を用いて、出芽酵母で複製中のテロメアに、DNA二本鎖切断修復に関与する因子が結合していることを見いだしたのである。さらに興味深いことに、テロメアの複製に必要な分子装置が集積する過程と、二本鎖切断修復の初期過程が類似していることがわかった。

つまり、テロメア複製は、テロメアを保護する構造が失われて末端が露呈される細胞周期の時間帯を利用し、損傷修復因子の助けを借りて行われていたのである。ヒト細胞でも同様に、細胞周期の時期に特異的なテロメア構造の「ぼつれ」(消滅)が起こっていることが報告されている。このように、染色体末端の複製の進行は巧妙な分子機構により制御されているらしく、その詳細は現在まさに解明の途上にある。

ところで、多くの原核生物では染色体は環状であるため、染色体複製に際して末端複製という「危険な橋」を渡らずにすんでいる。では、なぜ真核生物の祖先は線状の染色体構造を選んだのだろうか? 複雑化した染色体を維持する上で線状であることの利点があるのではないかと筆者は考えているのだが、本当のところはまだよくわからない。

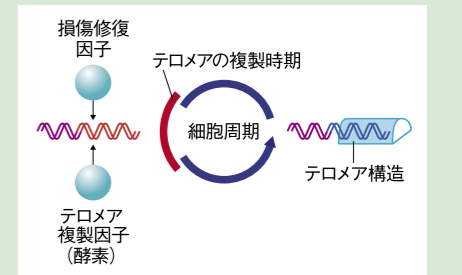


図2 テロメア構造の細胞周期における変化  
テロメア複製が起きる時期には、テロメア構造(の一部)は失われている。