

平成18年度記者発表資料（資源生物科学研究所）

- (1) 「植物における染色体機能要素の分子的解析と人工染色体の構築」プロジェクト  
(研究代表者:村田 稔教授 (岡山大学資源生物科学研究所)) について

科学技術振興事業団・戦略的基礎研究推進事業(CREST)

研究領域「植物の機能と制御」H12年度採択

研究期間：平成12年11月～平成18年3月

研究代表者（所属）：村田稔（岡山大学資源生物科学研究所）

研究分担者（所属）：長岐清孝・小倉豊（岡山大学資源生物科学研究所）、遠藤隆・那須田周平（京都大学農学研究科）、辻本壽（鳥取大学農学部）、星野卓二（岡山理科大総合情報学部）、Heslop-Harrison, J. S., Schwarzacher, T.（英国レスター大学生物学科）

### 研究の背景と目的

植物の染色体は、他の真核生物の染色体と同様に、連続した一本の二本鎖 DNA から成っており、この中に染色体として機能するための要素（複製起点、テロメア、セントロメア）が含まれている。これら3機能要素のうち、セントロメア（動原体）は、染色体の分配を司る重要な機能要素であるが、植物では、機能をもつ DNA 配列はまだ単離されていない。それ故、本研究では、シロイヌナズナ、タバコ等のナス科、コムギなどのムギ類、カヤツリグサ科の植物種でセントロメアの構造と機能を解析する。さらには、これら DNA 配列に結合するタンパク質を同定、解析し、“分配”という染色体の機能がいかんして維持されているか解明しようとするものである。そして最終的には、植物における人工染色体を構築し、その利用法について研究する。

### 現在までの研究成果

我々は、シロイヌナズナ(*Arabidopsis thaliana*)において、非常に小型のミニ染色体を複数発見し、その構造を解析した。これら染色体の推定サイズは、4-8Mb（メガ塩基対）で、由来した染色体（25-26Mb）よりもかなり短い。また、これらミニ染色体のセントロメアも、由来した染色体よりもかなり短いことが示めされた（500-960kb）。これら染色体は、有糸分裂、減数分裂においても、正常に伝達されることから、セントロメアの機能は正常であると思われる。しかし、2S-D と呼ばれるミニ染色体は、これまでの常識では理解できない特殊な環状構造をもっていた。今後は、これらミニ染色体を遺伝子工学的に改変することにより、植物細胞で機能する新規の人工染色体ベクターを作り出す計画である。

また、レスター大学と共同で、セントロメア DNA に結合するタンパク質の解析も進めており、数種の特異的タンパク質が特定された。これらの多くは、相同タンパク質が酵母やヒトでも存在しており、セントロメアには同様のマシーナリーが保存されていることが明らかとなった。しかし、一方で、共通性が見られないタンパク質も存在し、植物では、特異的な分化が起こっていることも示唆された。

多くの植物は、各染色体に1個のセントロメアしか持たないが、多数のセントロメアを有するものが少数存在する。我々は分散型セントロメアをもつルズラから、セントロメアタンパク質をコードする遺伝子を同定し、抗体を作製した。その結果、植物では初めて、分散型セントロメアを可視化することに成功し、その動態が明らかとなった。

京都大学、鳥取大学等との共同研究では、コムギなど各種植物のセントロメア DNA を解析した。その結果、セントロメア DNA は、進化が非常に早く、保存性が極めて低いことが明らかとなった。

科学技術振興機構(JST)・戦略的創造研究推進事業(CREST)

研究領域:植物の機能と制御

研究期間:平成12年~18年

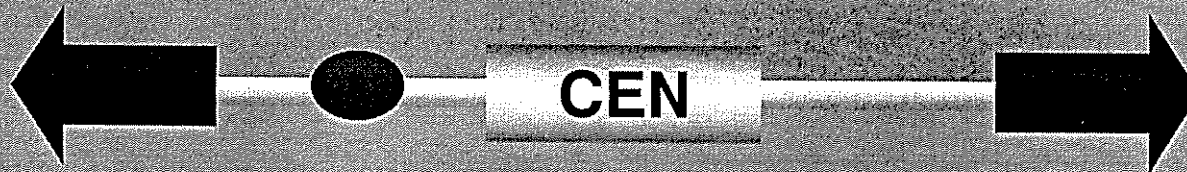
# 植物における染色体機能要素の 分子的解析と人工染色体の構築

研究代表者:村田 稔

岡山大学資源生物科学研究所

# 真核生物染色体の機能要素

## 人工染色体



**Yeast Artificial Chromosome (YAC)**

Murray & Szostak 1983

**Mammalian Artificial Chromosome (MAC)**

Harrington et al. 1997, Ikeno et al. 1998

# セントロメアの機能

キネトコア形成

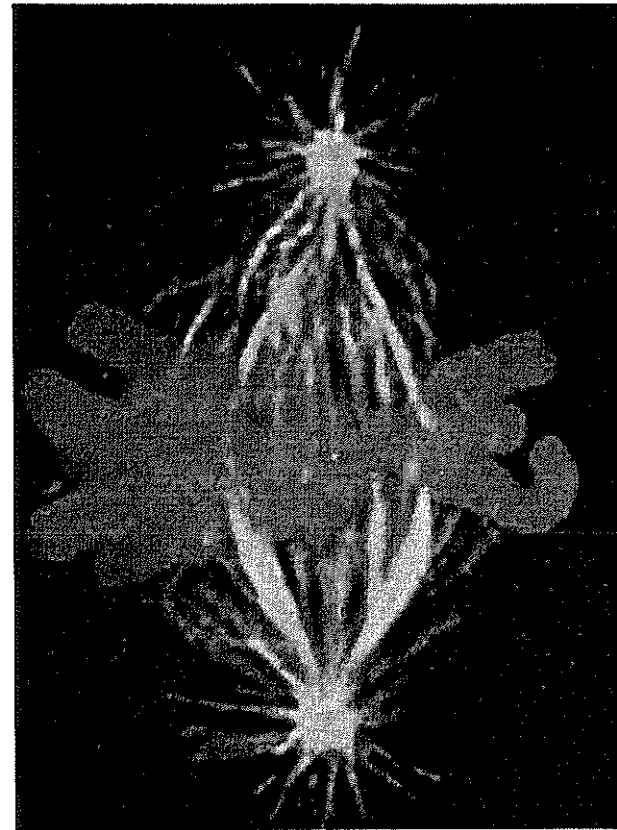
微小管(紡錘糸)付着

染色体移動

姉妹染色分体接着と分離

ヘテロクロマチン形成

有糸分裂チェックポイント制御



# セントロメアの構造

- ・ 一次構造(DNA配列)は、複雑で非常に長い
- ・ 多くの場合、短い基本単位(~200 bp)からなる縦列型反復配列を含んでいる
- ・ DNA配列は、種によって大きく異なっている

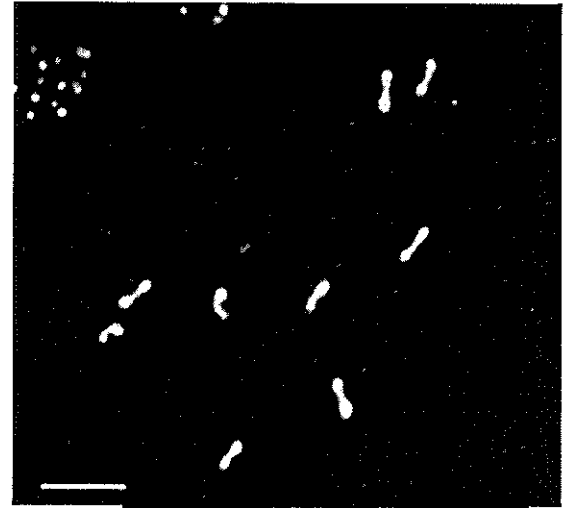
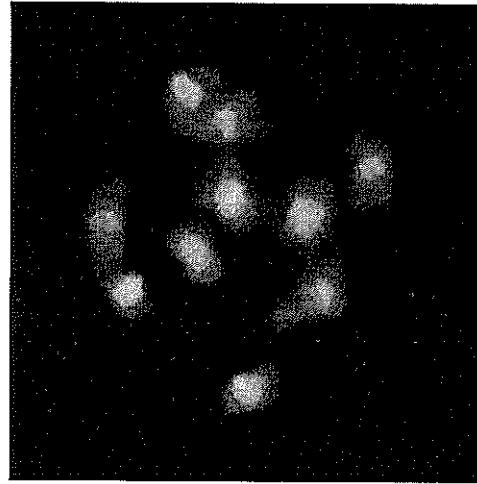
“分配”機能は共通 → セントロメア・パラドックス



ムギ類

京都大学

局在型セントロメア  
双子葉植物



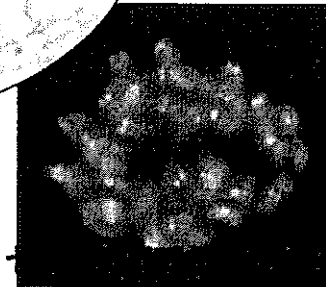
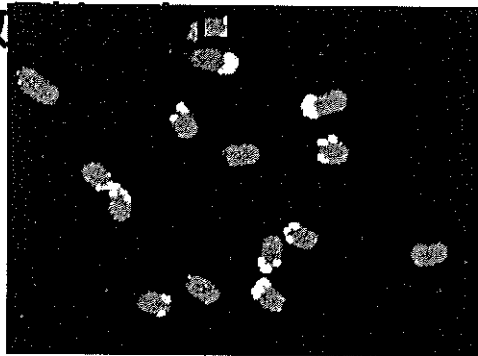
鳥取大学

単子葉植物

岡山理科大学

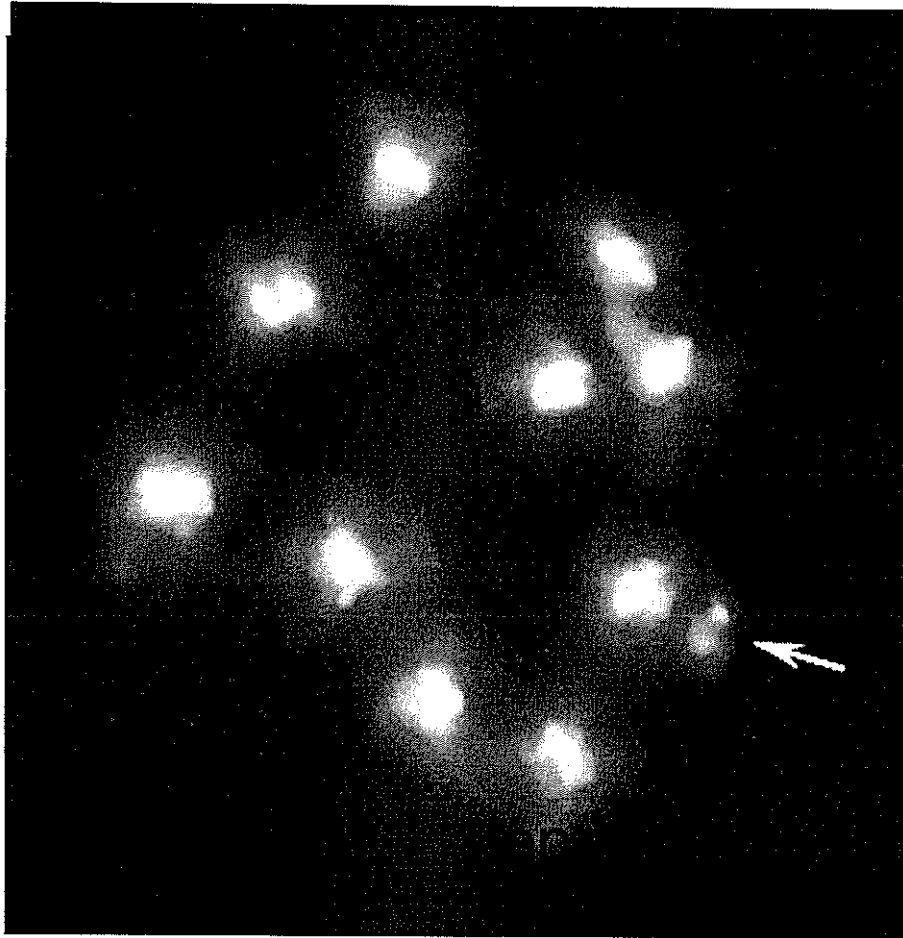
岡山大学  
かずさDNA研究所  
レスター大学

分散



パク質

# シロイヌナズナのミニ染色体



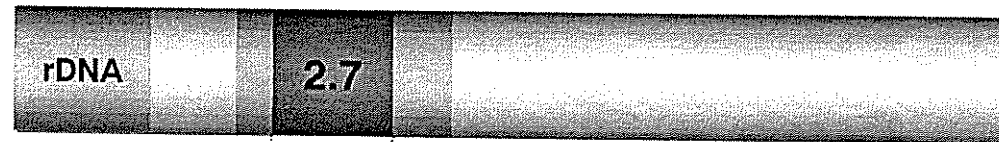
**Tr4S line**

**$2n=10+1_m$**

# ミニ4S染色体のサイズ

## Chromosome

4



25.3 Mb

180-bp repeat core

mini 4S



8 Mb

エコタイプ	伝達率 (%)
Landsberg <i>erecta</i>	34%
Columbia	57%



T-DNA

180-bp 5S-rDNA

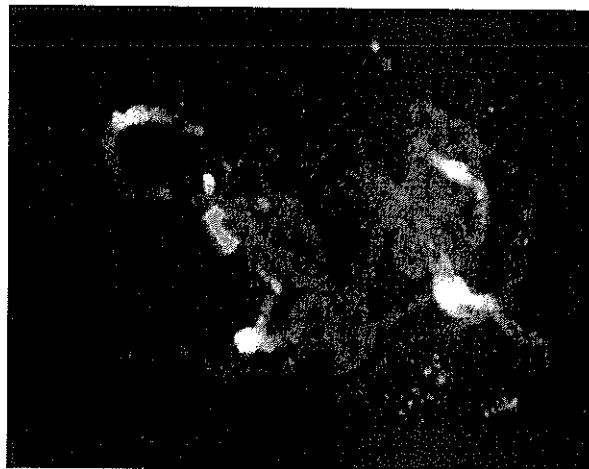
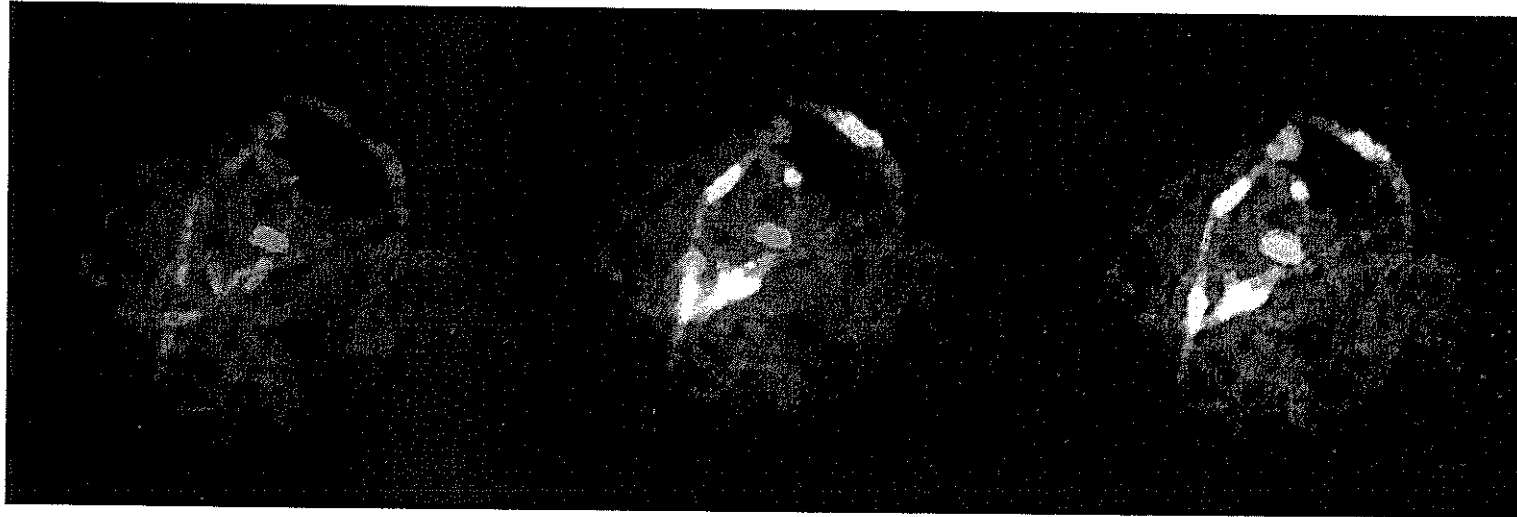
18S-rDNA 180-bp

T-DNA

2n=

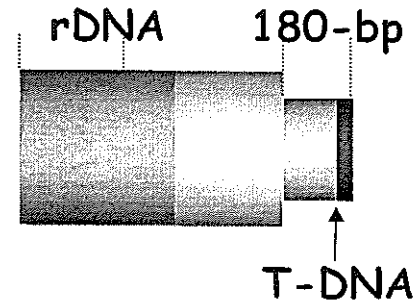
11

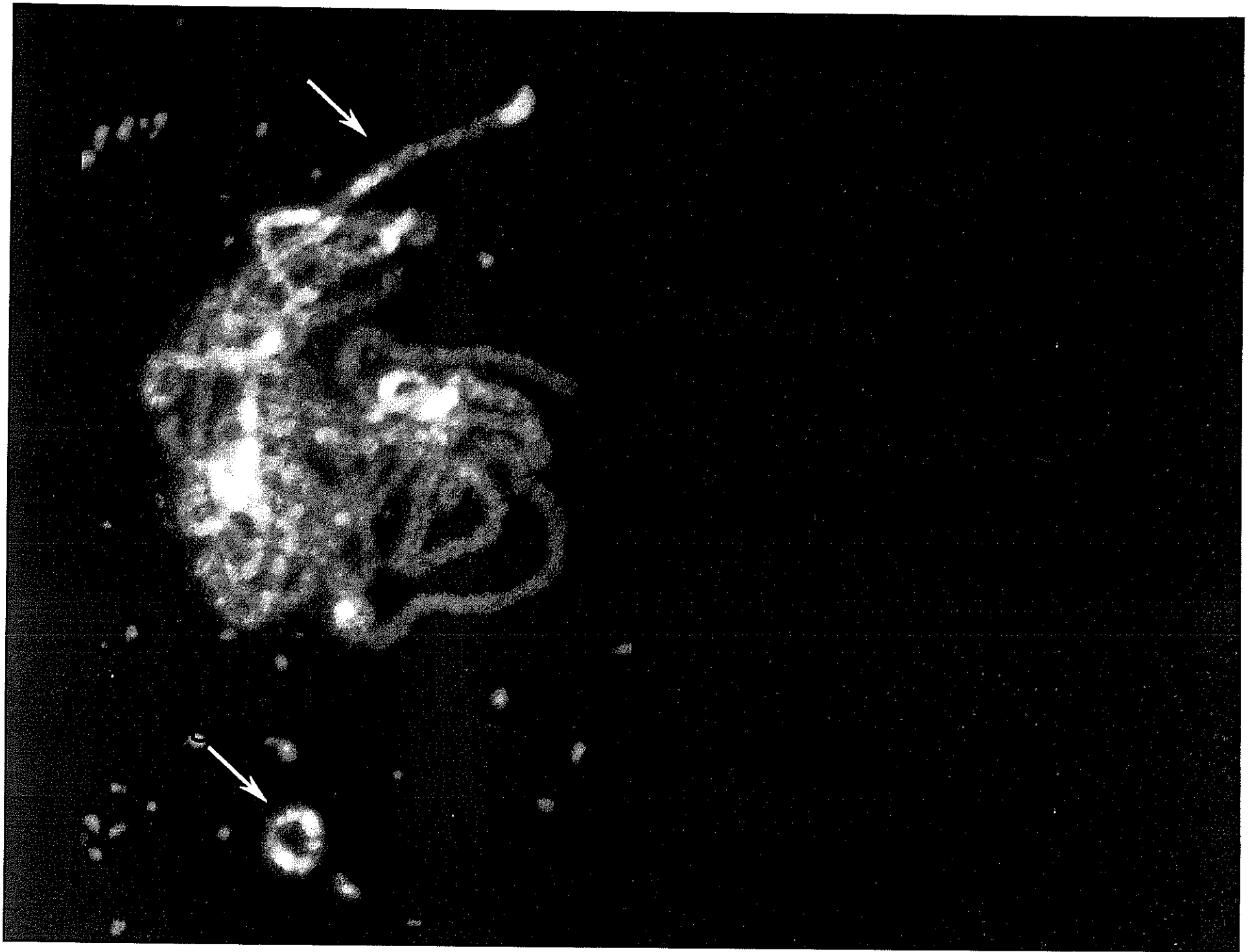
(2S')



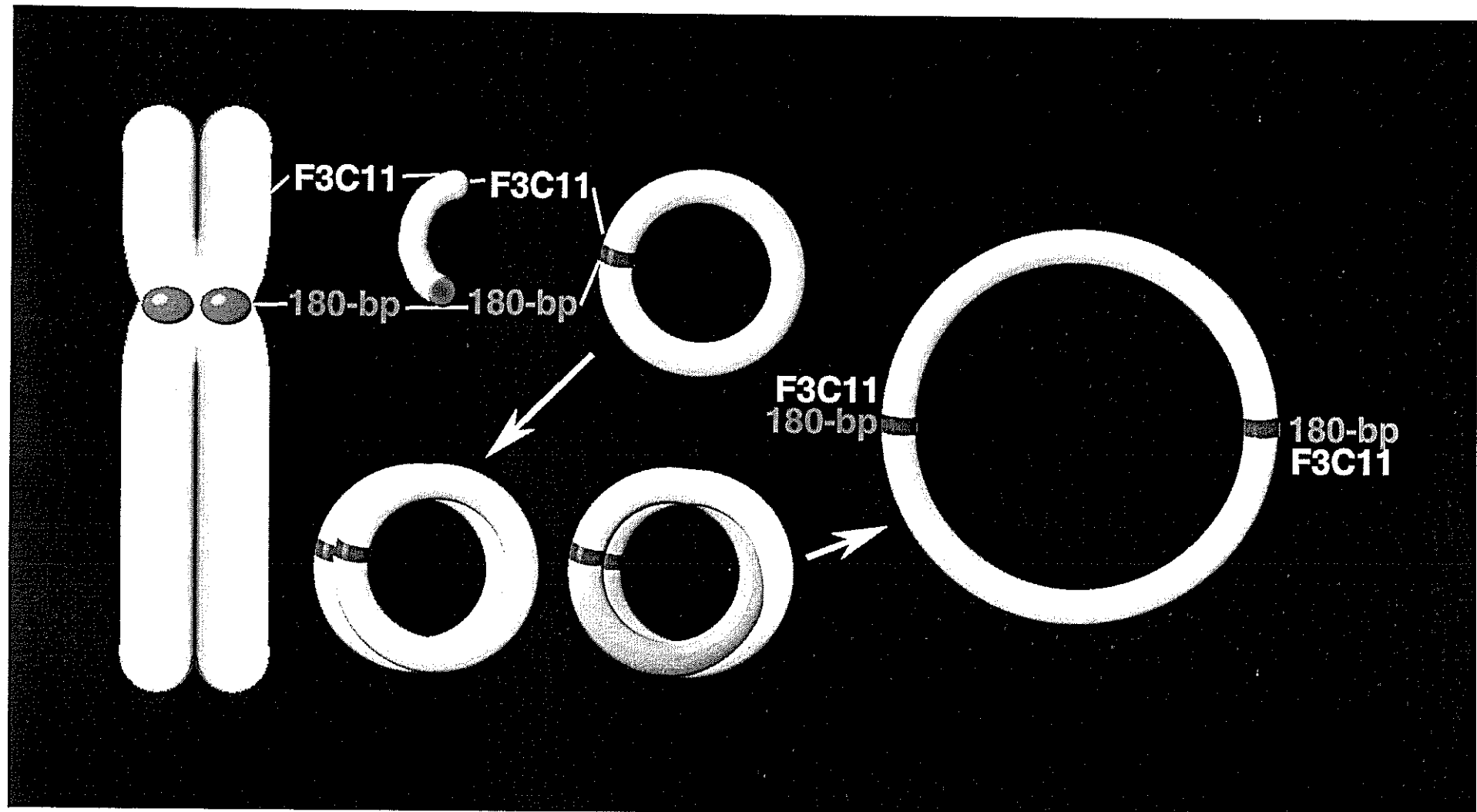
} 180-bp  
T-DNA  
T16I21

~0.7Mb





# How was the dicentric ring chromosome produced?



# ミニ染色体のセントロメア活性

ミニ染色体	起源した染色体	サイズ (Mb)	形状	セントロメア	
				サイズ (Mb)	活性
4S	第4染色体短腕	8	線状	1.0	+
2S-A	第2染色体短腕	7.5	線状	0.7	+
2S-D	第2染色体短腕	4	環状	0.5(x2)	+
2S-B(1L)	第2染色体短腕	?	線状	0.3	-

# 人工染色体の構築 Bottom-up approach

