

遺伝子の相同組換えの反応機構

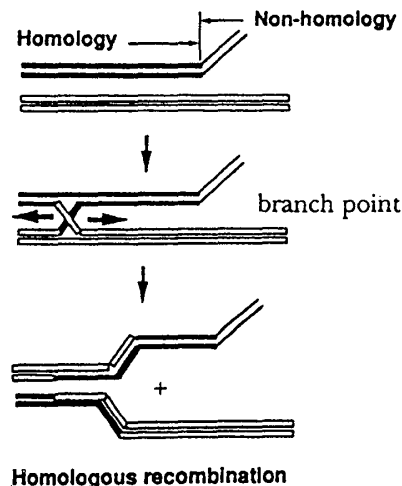
慶応義塾大学理工学部物理情報工学科 (〒223-8522)

藤谷洋平 (youhei@inst.keio.ac.jp)

1) 遺伝子の相同組換え

二本鎖 DNA の領域を二つ考えよう。各々是一对の相補的 DNA 鎖からなる。各々から選んだ DNA 鎖が、全くあるいは、ほとんど同一の塩基配列を持つとき、その二つの領域は互いに相同であるといい、またこの領域を相同領域(homologous region)という。二つの二本鎖 DNA は、相同領域内で組換え、つまりつなぎかえをおこす。この酵素的反応を遺伝子の相同組換えといい、生物一般にとって重要な反応である。細菌を使った実験から、相同組換えの頻度は相同領域の長さ (n base pairs) に線形の依存性があるとされた。ところが、哺乳動物細胞を使った実験で、非線形の依存性が報告された。これらの実験は主に同一の塩基配列をもつ相同領域が使われている。

この反応には中間体があって、そこではまず各々の DNA 鎖がつなぎかわる (右図: 二重螺旋構造は省略)。このつなぎかわりの部分を分岐点というが、これは領域の相同性を利用して移動できる。この移動中に、つなぎかわっていなかった DNA 鎖どうしもつなぎかわって、二本鎖の組換えが完成する。



2) ランダムウオークモデル

我々は、分岐点移動を一次元格子上的ランダムウオークとみなし、上記依存性の説明を試みた

(Genetics 140, 797. (1995); Phys. Rev. E 52, 6607. (1995))。反応開始の直後のみ稀な頻度 (格子点あたり α) で生じる分岐点は、ランダムウオークしている間に生成物 (組換え体) を生じて消える。分岐点は相同領域の端にぶつくと、生成物を作らずに相同領域から消えてしまうとしてよかろう (purely absorbing boundary)。このような消滅は移動中にもおこりえよう。充分時間がたってからの組換え体の頻度は容易に求まり、

$$\begin{aligned} \Pi(n) &\approx k\alpha \left\{ (n+1) - \frac{2}{\sqrt{h}} \tanh \frac{(n+1)\sqrt{h}}{2} \right\} \\ &\approx \begin{cases} k\alpha \left(n - \frac{2}{\sqrt{h}} \right) & \text{for } n \gg 2/\sqrt{h} & n^1\text{-dependence} \\ h k \alpha n^3 / 12 & \text{for } n \ll 2/\sqrt{h} & n^3\text{-dependence} \end{cases} \end{aligned}$$

ここで、 h は移動中の分岐点が格子点あたりに消滅する (=組換え体に変化することを含む) レートの、分岐点の左右への遷移レートに対する比で、 k は消滅した分岐点のうち組換え体に変化する割合である。実験で観察された非線形依存性は3乗

依存性によくフィットし、上記結果が両依存性とも説明できることがわかった。

3) “不純物問題”

上記ランダムウオークを、ランダム媒質中（遷移確率が確率的とする）で考えることで、相同領域中に非相同塩基対が含まれる場合を考えることができる。Datta ら（*Proc. Nat. Acad. Sci.* 94, 9757. (1997)）は、350 base-pairs の相同領域を用いて、methyl-directed mismatch repair system (MMR)存在下では、非相同塩基対（いわば不純物）の含有率が0から少し増えるとき、組換え頻度が大きく減少することを見いだした。この very rapid dropoff は、MMR がいないときは見られない。これらの実験結果は上述のモデルで確かに説明できることがわかった（投稿中）。また map expansion という別の現象が、同じ機構で説明できることもわかった（*J. Theoret Biol.* 189 443. (1997)）。

ランダムウオークモデルによる“very rapid dropoff”の説明を簡単に言えば次のようである。3 乗依存性領域にある長さをもつ相同領域を考えよう。その真ん中に不純物を挿入しよう。MMR 存在下では、分岐点がそれにあたると生成物を作らずに消滅すると考えられ、それならば挿入によって（実質的に相同長が半分になり）組換え頻度は $1/8$ も急降下する。

4) 遺伝的組換えの機構解明への期待

遺伝的組換えは、数多くの相同領域とそうでない領域を持つ二本の染色体間で起こる組換え反応で、相同組換えが基礎になっている。ひとつの組換えがおけるとそのまわりでは、別の組換えが抑制されるように見える現象（干渉）が、今世紀前半既の実験的に見いだされている。以来、多くの人が理論的説明を試みてきたが、反応機構に関する実験的知見が少ないためもあって、決定的な理論はない（McPeck & Speed, *Genetics* 139, 1031. (1995)）。ここでは、上記のランダムウオークモデルから類推して、一つの相同領域からとなりの相同領域へ分岐点がホップできると予想し、この過程をランダムウオークとみなして解析を試みた。

この場合考えている領域が長いため、多数の random-walkers（分岐点達）の生成を考えなければならない。分岐点は、ふたつ衝突すればある確率でともに消えよう。このような一次元反応拡散系において二点密度相関を求める問題は、M.Doï (*J. Phys. A* 9, 1465. (1976)) によって導入されたように、マスター方程式をフォック空間で記述し、密度相関を径路積分で表示することで、摂動的に解くことができる。ここで摂動パラメーターは、分岐点が衝突時に消える確率である。確かに干渉が定性的に説明できた（投稿準備中）。さらに分岐点と組換えが既におこった点との相互作用を考えて、定量的に実験データと一致させうることがコンピューターシミュレーションを用いて示せた（投稿準備中）。

当研究は、全般にわたり東大医科研の小林一三氏との、また一部は北里大理学部の上野真太郎氏との共同による。藤谷の研究の一部は、慶應学事振興資金の援助による。