

論文審査の結果の要旨

論文提出者氏名 仮屋園 遼

減数分裂は真核生物が有性生殖を行う上で必須のプロセスで、これによって二倍体の細胞から一倍体の配偶子が生じる。減数分裂期には相同染色体間での相同組換えが生じ、ゲノムの多様性や減数分裂における染色体分配の正確性を保証している。相同組換えは DNA に二重鎖切断(double strand breaks DSB)が導入されることによって開始する。DSB は種間で保存された Spo11 複合体が導入し、Spo11 複合体は様々な制御を受ける。本論文では種間で保存された減数分裂期特異的タンパク質 Hop1 に着目し、分裂酵母において Hop1 が DSB 形成を促進するメカニズムを解析した。

本論文は「**Introduction**」「**Materials and methods**」「**Results**」「**Discussion**」「**Conclusion**」から構成され、以下にその概要を述べる。

「**Introduction**」では先行研究で知られている Spo11 複合体とその制御因子の保存性を総括し、DSB の制御において減数分裂期特異的な染色体構造である軸の重要性を説明している。また、分裂酵母においては Spo11 複合体の因子 Rec15 と軸の因子 Rec10 の結合が Spo11 複合体と軸との相互作用および DSB 促進の分子基盤であるとする先行研究を紹介し、その上で種間で保存された軸因子 Hop1 が DSB 促進に働くメカニズムの解明が不十分であることを問題提起している。最後に、Hop1 は多数の機能を持つが、本論文の研究で用いた分裂酵母では DSB 促進以外の寄与が少ないことから Hop1 の DSB 促進メカニズムの解析に適していることを説明している。

「**Materials and methods**」において用いた酵母株の作成法、減数分裂誘導の手法、共免疫沈降、酵母 2 ハイブリッド法、パルスフィールド電気泳動、組換え価測定、クロマチン免疫沈降 (ChIP)、ChIP-シーケンシングの解析方法について説明している。

「**Results**」は 4 章に分かれている。第 1 章では Hop1 の局在をゲノムワイドに解析し、染色体の軸と、DSB ホットスポットの双方に局在することを明らかにしている。Hop1 の局在パタ

ーンと軸因子 Rec10 および Spo11 複合体因子 Rec15 の局在パターンの類似性から、Hop1 の局在パターンが Rec10 および Rec15 に影響を受けていることを ChIP-qPCR で示している。第 1 章でこれらの因子間の相互作用が示唆された為、第 2 章で酵母 2 ハイブリッド法と共免疫沈降によって Hop1 が Rec15 および Rec10 の両方と相互作用することを示している。第 3 章において Hop1 と Rec15 の相互作用が Rec15 および Rec10 の局在パターンに影響を及ぼすことを、Hop1 野生型株、Hop1 の Rec15 結合変異体(*hop1-9A*)および Hop1 破壊株(*hop1Δ*)について ChIP-qPCR と ChIP-シーケンシングにより示した。また、*hop1Δ*および *hop1-9A* で DSB の形成が減少していることを示し、Hop1 と Rec15 の相互作用が Rec10 および Rec15 の軸とホットスポットへの局在を促進し、DSB 形成の促進に働くことを明らかにした。第 4 章では、Hop1 が Rec10 と Rec15 の結合を増強することを酵母 3 ハイブリッド法で示し、Rec10 と Rec15 の直接の結合と、Hop1 を介した結合の冗長な二経路で軸と Spo11 複合体が結合し DSB 形成を促進することを、それぞれの経路特異的な変異体を用いて明らかにしている。

「**Discussion**」では上記の結果と先行研究を踏まえ、検討を行っている。Rec10, Hop1 および Rec15 の局在依存関係から、減数分裂期の軸形成に伴い Rec10, Hop1, Rec15 の順に階層的に染色体軸に局在して減数分裂期の染色体が形成されるモデルを提唱し、Rec15 と軸との結合経路が二つ存在することについて、Hop1 が動的に結合解離して DSB 形成の調節を行っている可能性を提示した。さらに、Hop1 を介した Spo11 複合体と軸の相互作用について種間で保存されている可能性を論じている。

本論文は分裂酵母の DSB 形成複合体とそれを制御する染色体の軸との相互作用が Hop1 によって仲介され、DSB 形成の促進に働くことを示し、種間で保存された減数分裂期の軸の因子 Hop1 の DSB 形成における働きの理解に大きく貢献したと考えられる。

なお、本論文の内容は小田有沙、山田貴富、および太田邦史との共同研究であるが、論文提出者が主体となって研究を行ったもので、その寄与は十分であると判断する。

したがって、博士（理学）の学位を授与できると認める。