

論文審査の結果の要旨

氏名 河野 宏光

減数分裂期の相同組換えは生物多様性の原動力としての機能だけでなく、有害な変異や利己的な振る舞いをする遺伝子の除去を通じて、子孫の生存可能性の向上に重要な役割を果たしていると考えられる。近年、ヒトやマウスにおいて相同組換えが高頻度で生じる染色体領域「組換えホットスポット」の位置決定因子であるヒストンメチル基転移酵素 *Prdm9* が同定された。*Prdm9* は減数分裂期の転写制御因子やマウス亜種間の生殖隔離因子としても報告されていたが、これらを合理的に説明可能な作用機構の解明はなされていなかった。

本研究は野生マウス集団に由来する試料を用いてマウス *Prdm9* の多型の全容を解明し、さらに *Prdm9* 遺伝子改変マウスや、*Prdm9* 依存的なホットスポットを人工的に導入したマウスを作成することで詳細な機能の検証を試みている。これまでの先行研究から、マウス系統間の組換えホットスポット位置は、*Prdm9* の Zinc finger array (ZFA) 領域の多型に依存することが明らかとされていたが、同様に転写制御因子機能も DNA 結合を行う ZFA 多型から大きな影響を受けることが予測され、さらに生殖隔離にも ZFA 多型が関与していると報告がなされている。本研究では野生マウス集団中の *Prdm9* 多型を解析し、主に生殖隔離機能の検証を目標とした系統地理学的解析を行い、ZFA 領域の多型と亜種集団の進化の関連性を議論している。加えて *Prdm9* ノックイン (KI) マウス作成の結果得られた低形質性マウスの表現型解析と、*Prdm9* により活性化する組換えホットスポット配列を人工的に導入したトランスジェニック (Tg) マウスを作成することで、*Prdm9* 依存的な相同組換えが導入した配列でも生じるか検証している。

本研究は主に、「序章」と3章ごとに分けられた「材料と方法」「結果」「考察」から成る。

「序章」では減数分裂期の相同組換えや、組換えホットスポットの形成機構の先行研究に対する、本研究課題の位置づけと意義について述べられている。まず相同組換えの分子機構と組換えホットスポットの活性化因子 *Prdm9* の発見に至るまでの過程、続いて減数分裂進行に必須の転写制御因子として明らかになった経緯と、ヒトとマウス、その他の動物種における *Prdm9* の進化、そして生殖隔離の原因遺伝子としての機能について説明がなされている。次に、複雑な機能をもつと推測される *Prdm9* に対し、野生マウスゲノム DNA を用いて多型解析を行うことの意義などが述べられている。

本研究は3章に分けられており、第1章では「マウスにおける *Prdm9* 多型の系統地理的解析」、第2章では「*Prdm9* 遺伝子への低形質性変異の導入とその機能解析」、第3章では「新規組換え検出系を持つマウスの作成」について述べている。

第1章では野生由来近交系マウス cDNA や、野生捕獲マウスのゲノム DNA の *Prdm9* ZFA および周辺 DNA 配列の多型の系統解析がなされている。結果として、マウスでは結合配列に影響を与える膨大な多型が存在することが明らかとなったほか、亜種集団ごとに *Prdm9* ZFA 多型グループが対応していた。この結果は組換えホットスポットが固定化することに対する選択圧の存在を示唆している。また *Prdm9* イントロン領域や周辺遺伝子との系統解析から、*Prdm9* 内と周辺の遺伝子間での組換えの痕跡が発見され、過去の時点では *Prdm9* の多型に依存した生殖隔離は生じていなかったことが明らかとなった。

第2章では *Prdm9* ZFA が複雑な機能的差異の原因となることを示すために、ZFA 領域配列が交換可能な KI マウスの作成を試みている。作成した KI マウスでは低形質性の表現型が確認され、既報の *Prdm9* ノックアウトマウスヘテロ接合体と類似する減数分裂期の異常や受精率の低下などが観察された。原因としてエピトープタグの付加により *Prdm9* ZFA の結合が干渉を受けたと推測された。

第3章では *Prdm9* により活性化されるホットスポット配列を人工的に導入した Tg マウスの作成を行い、組換えの検出を行うと同時に PCR に依存しない相同組換えの検出が可能なマウス系統の作成を試みている。本来の位置と異なる3か所の染色体上の領域にそれぞれ組換えホットスポットを導入し、そのうち2か所で相同組換えが観察された。この結果は *Prdm9* 依存的な相同組換えがマウスにおいては普遍的に生じていることを示唆していると共に、組換えホットスポットがヒストン修飾以外の染色体上の位置やその他の因子の影響を受ける可能性があることを示している。

総合討論ではこれらの結果を受け、組換えホットスポット配列の変化とその活性化機構の抱える矛盾点である「ホットスポット・パラドックス」の解決のため、*Prdm9* に依存した減数分裂機構をもつ生物と、*Prdm9* 非依存的に組換えホットスポットとして高 GC 配列に代表される領域を利用する生物について議論している。ヒトやマウス (*Prdm9* 依存的) と、イヌ (*Prdm9* 非依存的) のように比較的新しく分岐した生物であっても異なる減数分裂方式であることから、今後両者の進化と適応的な意義の解明が期待される。

本研究は、種としてのマウス集団に含まれる *Prdm9* の多型・系統解析により、生殖隔離の原因遺伝子機能を考察した点や、人工組換えホットスポット配列における組換えを測定し、マウスの組換えホットスポット制御が普遍的に行われていること、および *Prdm9* の活性を変化させる因子の存在を示唆したという点で、多面的な観点から当該分野において学問的に極めて重要な貢献を果たしたと考えられる。本論文の内容の一部は、既に論文提出者が筆頭著者となる田村、長田、鈴木、森脇、太田、城石との共著論文として学術誌に掲載されており、この論文において河野が主要な貢献をしたことが明らかであることから、審査委員会は全員一致で河野宏光に博士(理学)の学位を授与できると判断した。