

論文の内容の要旨

染色体高次構造による減数分裂組換え開始制御

伊藤 将

生命が存続し続ける上で、子孫にゲノムを安定的に継承することが不可欠である。また、多様性を持った子孫を獲得することは、生命が環境の変化に適応し、進化して行く上で、極めて重要である。

真核生物は、子孫を継承する際に減数分裂を行う。この際に、両親由来の相同な染色体間で組換えを起こす（遺伝的組換え）。この組換えは、配偶子に多様な遺伝情報を継承するだけでなく、配偶子への正常な染色体分配にも必須である。すなわち、減数分裂期の遺伝的組換えは、多様な子孫を安定的に獲得する上で不可欠なプロセスである。

減数分裂期の遺伝的組換えは、DNA 二本鎖切断（double-strand breaks; DSBs）によって開始される。DSB 形成は、遺伝的組換えの初期反応として組換えの“場所”と

“頻度”を決定する極めて重要な反応であると考えられる。

DSB は種間でよく保存された Spo11 タンパク質と、複数の Spo11 補助因子の働きによって形成される。DSB は染色体上において一様な頻度で起こるわけではなく、高頻度で起こる“ホットスポット”が存在する。全てのホットスポットに共通の DNA 配列は存在せず、ホットスポットがどのようにして決定されるのかは、未だ明らかになっていない。しかしながら、近年、減数分裂期に特異的に見られる染色体の高次構造が DSB の制御に重要な役割を果たす可能性が示唆されてきた。

減数分裂前 DNA 複製を終えた染色体は、姉妹染色分体を接着するコヒーシン及び複数の軸因子によって構成される“軸部”と、そこから遊離した“ループ部”からなる三次元的な高次構造を形成する。先行研究により、DSB ホットスポットの大部分がループに位置することが示された。これに対し、Spo11 補助因子がループではなく軸部に結合する、という観察結果が報告された。このパラドックスを解決する考え方として、ループに位置する DSB ホットスポットと軸部が連結することで DSB が形成されるという、“軸-ループ連結モデル”が提唱された。しかしながら、軸-ループの連結を介した DSB 制御の分子機構の詳細は明らかになっていない。

そこで本研究では、軸-ループ構造による DSB 制御の分子機構の解明を試みた。まず、分裂酵母を用いて、ChIP-chip 法により DSB 因子の局在をゲノムワイドに検証した。その結果、軸因子 Rec10 が、他の DSB 因子の軸部結合の基盤となることが明らかになった。さらに Rec10 が軸部に加えて、Mde2 依存的にループの DSB ホットスポットにも結合することが明らかになった。これはすなわち、Mde2 によって軸-ループ連結が誘導されることを示唆する。Mde2 は複製チェックポイントの支配を受けて、DNA 複製完了後に発現が誘導される。これらの結果から、Mde2 は軸-ループ連結という染色体高次構造の変化と DNA 複製チェックポイントを関係させるリエゾン因子

として、DSB 形成を時空間的に制御する、という新規の概念を提唱した。

続いて、出芽酵母においてコヒーシン Rec8 の局在を ChIP-seq 法により高解像度で明らかにし、先行研究により示されている高解像度の DSB の分布と比較することで、軸部と DSB ホットスポットの位置関係を詳細に解析した。その結果、Rec8 結合部位、すなわち軸部近傍において DSB ホットスポットの頻度が顕著に低いことを示した。転写因子 Gal4 の DNA 結合ドメインと Spo11 を融合した Gal4BD-Spo11 を軸部近傍に強制結合させたところ、DSB 形成が抑制されることが明らかになった。さらに、軸部近傍において、H3K4me3 レベルが低下していることを明らかにした。先行研究において、DSB ホットスポット周辺に見られる H3K4me3 が DSB ホットスポットと軸部の連結を促進する可能性が示唆されている。軸部近傍では H3K4me3 レベルが低いために軸-ループ連結が起こりにくく、結果として DSB ホットスポットが形成されにくいのではないかと考えられる。