

論文審査の結果の要旨

論文提出者氏名 伊藤 将

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り、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といえる。

減数分裂期の遺伝的組換えは、DNA 複製後に、DNA 二本鎖切断 (double-strand breaks; DSBs) によって開始される。DSB は遺伝的組換えの初期反応として組換えの“場所”と“頻度”を決定する律速段階である。本研究は、減数分裂期に特有の染色体高次構造に着目し、DSB 制御の分子機構の検証を行ったものである。その結果、分裂酵母において、染色体高次構造を介した DSB 制御の中心的役割を果たし、さらに DSB 形成と DNA 複製を連係させる“リエゾン因子”の存在を示した。また、出芽酵母において、染色体高次構造により DSB 形成が抑制される領域が存在することを示した。以下に本論文の構成と概要を述べる。

序論においては、まず、減数分裂期の遺伝的組換えの研究意義、続いて DSB 制御機構に関する背景がまとめられている。ここでは、DSB を導入する種間によく保存された Spo11 タンパク質と複数の Spo11 補助因子 (DSB 因子) の働き、DNA 複製と DSB 形成の連係、コヒーシン及び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”から成る高次構造の機能、ループ部と軸部の相互作用による DSB 形成の促進に関する仮説などについて論じている。また、本研究の課題、すなわち「軸-ループ構造による DSB 形成制御の分子機構」や、その課題に関する研究方法について説明がなされている。

研究結果及び考察は 2 章に分けられており、第 1 章は「分裂酵母における DSB 制御機構 (Mde2 による複製チェックポイントと連係した軸-ループ連結制御)」、第 2 章は「出芽酵母における DSB 制御機構 (軸部近傍における DSB コールドスポット形成)」について記述されている。

第 1 章では、主に ChIP-chip を用いて DSB 因子の局在解析が行われている。その結果、軸因子 Rec10 が、DSB 因子が構成する複合体の 1 つである SFT 複合

体の軸部への結合の基盤になることが示された。また、軸因子 **Rec10** がホットスポットに結合することが示され（これは軸-ループ連結を示唆する）、**Rec10** のホットスポットへの結合に **Mde2** が必要であることが明らかとなった。さらに、**Mde2** が **DSB** 因子の中で唯一発現が複製チェックポイントによって制御されていることが明らかとなり、**Mde2** が **SFT** 複合体と共にホットスポットに結合し、**DSB** 因子が構成するもう 1 つの複合体である **DSBC** 複合体をホットスポットに呼び込む働きを持つことが示された。考察では、**Mde2** が軸-ループ連結という染色体高次構造の変化と複製チェックポイントを連係させる新規の機能を持った **DSB** 制御因子 “リエゾン因子” である、という概念について論じている。

第 2 章では、コヒーシン **Rec8** の分布が **ChIP-seq** により高解像度で示され、これと先行研究により示された高解像度の **DSB** の分布と比較することにより、**Rec8** 結合部位（軸部）近傍に **DSB** コールドスポットが形成されていることが示された。また、**Gal4BD-Spo11** を軸部近傍に強制結合させた結果、**DSB** が抑制されることが明らかとなった。さらに、軸部近傍において **H3K4me3** レベルが顕著に低下していることが示された。考察では、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ことを踏まえ、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、その結果としてコールドスポットが形成されるのではないかと、というモデルが提示されている。

本研究は、軸-ループ連結を介した **DSB** 制御の分子機構を初めて詳細に明らかにした点、空間的制御（軸-ループ連結）と時間的制御（**DNA** 複製チェックポイントと **DSB** の連動）を連係するこれまでに類を見ない組換え制御因子の存在を明らかにした点、さらに、軸-ループ構造とヒストン修飾の複合的な要因によって形成される **DSB** コールドスポットの存在を示した点で、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。

なお、本論文のデータは、三好知一郎、久郷和人、山田真太郎、**Jeffrey A. Fawcett**、古市真樹、小田有沙、村幸子、池田晶、山田貴富、廣田耕志、正井久雄、印南秀樹、太田邦史との共同研究により得られたものである。論文提出者が主体となって検証及び解析を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。従って、審査委員会は全員一致で伊藤将に博士（学術）の学位を授与できると判断する。