



## 「減数分裂期組換え機構の基本メカニズムに関する研究」

(平成 11～15 年度特別推進研究「蛋白質の共同作業による多様な遺伝情報創出の仕組みとその制御」)

所属・氏名：岩手看護短期大学看護学科・教授・小川 智子

### ・概要

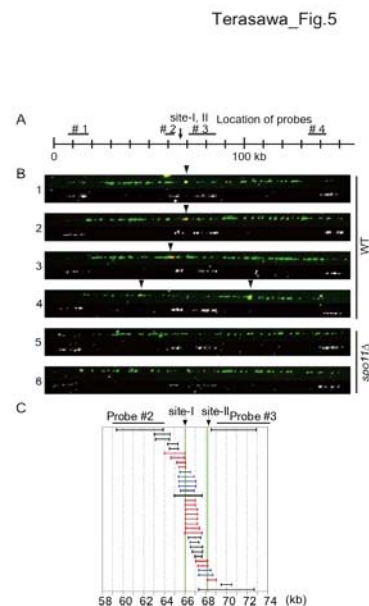
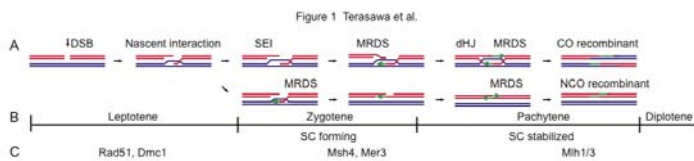
遺伝的組換え機構は、種の多様性をもたらすと同時に、変化をしてはいけない遺伝子の安定維持にも必要である。前者は減数分裂期組換え機構がその役目を担い、後者は体細胞分裂期で起こる DNA 複製と DNA に生じた傷の修復に関与する。組換えを行う基本的機能 (Rad51, Mre11, など) は生物全般に共通である。しかし組換え反応は種々の機能に関与するので、必要な時にのみ機能を働かせるため、厳密に制御されている。研究期間中に開始し、研究期間終了後も継続した課題は 3 つある。(1) は Mre11-Rad50-Xrs2 複合体 (MRX と記す) の機能を制御する Xrs2 蛋白質の機能領域の決定、(2) は減数分裂期組換えに伴って起こる DNA 合成 (MRDS : Meiotic Recombination related DNA Synthesis) を一分子の染色体 DNA 上に決定し、交叉型組換えと非交叉型組換えを区別すること、(3) は DNA 二重鎖切断後に、相同性検索に用いられる一本鎖 DNA 作成に働く Sae2 蛋白質の機能領域を明らかにする等である。

### ・研究成果

(1) 減数分裂期組換えの DNA 二重鎖切断に必須な MRX は、種々な働きを持つが、それぞれの働きを制御する Xrs2 蛋白質の機能領域を解析した。Xrs2 は、Mre11 の核移行に必要な領域、減数分裂組換えの DNA 二重鎖切断導入に働く領域、さらにテロメアの伸長や細胞周期チェックポイントにも関わる領域を持っていた。  
(2) 減数分裂期組換えでは、DNA 二重鎖切断後の切断末端に単鎖 DNA が作られ、その末端を利用して、相同検索が行われ、その後、削られた末端の DNA 修復合成を行なって組換えが完了する (図 1)。その修復合成を一分子染色体 DNA 上で検出する系を確立し (図 2B)、修復合成の位置と合成の長さ (図 2C) を決めた。さらに MRDS をマークに、それぞれの組換え蛋白質が、修復合成の前後、あるいはその時期に働くかを検出し、交叉型組換えと非交叉型組換えでの働き方の違いを区別した (図 1)。

図 1

図 2



(3) 減数分裂期組換えでは DNA 二重鎖切断点の 5' 末側のみを削り込み、創られた単鎖 DNA により相同検索が行われる。その削り込みには Sae2 蛋白質の機能が必須である。この削り込み反応の時に Sae2 蛋白質が MRX とどのように協同するかを、Sae2 変異株を用いて解析した。その結果、C 末側のリン酸化部位 3 カ所が DSB 末端の削り込み反応に必須な領域であり、N 末側 2 カ所のリン酸化部位が削り込み反応の効率を上昇させるために必要であった。また、5 カ所全部のリン酸化が染色体に MRX 複合体の結合に必要であった。

## ・波及効果

(2)と(3)の研究は発表から日が浅く、これらの研究の国際学界への貢献はまだ僅かであるが、(2)で確立した株や系の使用請求がある。国内からは学会発表後、DNA合成検出株とDNA Combing法にFishを組み合わせた実験系を使って協同研究が行われ、2006年に*Mol. Cell. Biol.*に発表した。

(1)については、Xrs2がヒトNbs1のホモログであるので、ヒト細胞でのDNA修復や染色体安定維持機構の解析などの研究基礎となっている。本研究を発展させた機能領域の解析から、染色体異常を引き起こすDNA修復機構(非同組換え)を阻害する機能が新たに見つかった(篠原美紀と篠原彰により公表)。DNAの傷を感知するセンサーや細胞周期チェックポイントを働かせるメディエーターになることが分かった。さらには、Nbs1の変異は、白血病や悪性リンパ腫などの癌を若年で発症するリスクを高くすることが知られているが、それはNbs1がDNAの傷を修復するために細胞周期チェックポイントを制御し、DNA二本鎖切断修復、テロメアの維持などを通して染色体の安定維持を担っているためである。

本研究は、酵母を用いた基礎研究で、医療に直接結びつくものではないが、組換えと修復に関する遺伝子群は生物共通であるので、本研究の知見はヒトの疾患の発生のメカニズムを解明するうえで大きな貢献をしている。引用文献15報のうち5報はReviewである。

## ・図の説明

図1 最終的に提案された組換えメカニズム。 緑の部分がMRDSを示す。

図2 減数分裂期で起こる、染色体のDNA複製と組換え時に起こるDNA修復合成を区別できる系の確立。緑が染色体DNA合成、白が染色体の位置を確認するFish、矢印で示されたものがMRDS。下の図はそのMRDSとDNA2重鎖切断部位の位置関係とMRDSの長さを示す。野生株のみの結果。赤が交叉型組換え、青が非交叉型組換えのMRDS。Mer3Δの結果は野生型と逆転している。

## 【科学研究費補助金審査部会における所見】

本特別推進研究は、ゲノムDNAの修復・組換えの制御に関して、Rad52やMre11といった蛋白質が、組換え機構にどのように関与するかを明らかにすることで、遺伝的組換え機構の解明に優れた成果をあげ、生物が如何に遺伝情報を安定に維持しつつ多様性を確保しているかについて総合的な理解を進めた。研究期間終了後も、研究代表者らは、引き続き遺伝子組換え機構に関する重要な研究成果をあげている。減数分裂期の組換えに伴うDNA合成部位を染色体上に特定する実験技術を開発することにより、交叉型・非交叉型組換えを判別して、提唱されている組換えモデルの実験的証拠を示した。また、Sae2蛋白質、Xrs2蛋白質について組換え制御に関連する機能を明らかにした。研究期間終了後に得られたこれらの成果は、特別推進研究で行った研究が十分活かされ発展していることを示している。

研究代表者らは、酵母を用いた相同組換えメカニズムの研究手法を世界に先駆けて開拓し、重要な相同組換え因子を同定することで、遺伝学的手法による相同組換え機構の研究という新しい学術分野を生み出した。本特別推進研究は、この成果に基づいて推進されたが、この間に世界中で本手法を利用する研究者が増加し、組換えの分子機構に関する研究が飛躍的に発展した。研究期間及びその後の研究によって開発された上述の交叉・非交叉を判別する技術も、当該学術領域における重要技術として基礎科学の分野において大きな波及効果を持つことが期待される。さらに応用面においても、本研究の成果は発がん機構を理解する上で非常に重要な知見であり、今後、がん予防や治療に役立っていくものと考えられる。一方、本特別推進研究で育成された若手研究者の多くは、現在では主体的に研究を推進する研究者として、減数分裂や組換え機構に関する優れた業績をあげており、当該学術領域における人的資源の貢献という観点からも着実に効果が持続・拡大しているといえる。発表論文の引用回数についても、相同組換え研究の分野としては非常に多く、研究期間終了後も引き続き当該分野の発展に貢献している。現在研究代表者は、看護師教育にも多くの時間を割く必要のある立場にあり、大規模な総合大学等と比較して十分な設備が整いにくい環境におかれているが、研究期間はもとよりその後も研究成果を持続して発表しており、特別推進研究によって整備された研究資源が十分に活かされ、その後の研究発展に寄与していると考えられる。