

令和 3 年 5 月 28 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2020

課題番号：17K15392

研究課題名(和文)HORMAD1による相同染色体のペアリング機構の解明

研究課題名(英文)Study on the mechanism for homologous chromosome pairing by HORMAD1

研究代表者

藤原 靖浩 (Fujiwara, Yasuhiro)

東京大学・定量生命科学研究所・助教

研究者番号：50793064

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：卵巣や精巣では減数分裂と呼ばれる特殊な細胞分裂が行われて卵子や精子が作り出される。このとき「相同染色体の対合」とよばれる過程を経て減数分裂組換えによって遺伝情報の部分的な交換が行われる。この「相同染色体の対合」には正確にマッチングが起きているかどうかを監視するメカニズムがあるが、その「相同染色体の対合」の監視役を染色体の上に呼び込むメカニズムの詳細は不明な点が多く残されていた。本研究では、「相同染色体の対合」においてコヒーシンと呼ばれるタンパク質が「相同染色体の対合」の監視役の因子HORMAD1を呼び寄せるいわば、染色体の「大黒柱」のような構造として重要な役割を担うことを突き止めた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

今回の成果はマウスを用いて検証されたが、ヒトの生殖細胞でも同じくコヒーシンやHORMAD1タンパク質が働いている。この仕組みが正常に働かなければ減数分裂組換え反応がうまく起こらなくなるため、精子・卵子形成が著しく低下し不妊となってしまう。ヒトの不妊症は原因が不明とされる症例が多いことが知られているため、今回の発見は、卵子・精子形成不全を示す不妊症の病態の解明に資することが期待される。

研究成果の概要(英文)：Gametes such as sperm and egg are produced through a specialized cell divisions called meiosis. During this process, homologous chromosomes pair and exchange part of their genetic information by homologous recombination. It is known that there is a mechanism which monitors if homologous chromosomes pair correctly. However, it has been elusive how factors responsible for this mechanism, such as HORMAD1, are recruited to where chromosomes pair. In this study, it was revealed that meiotic cohesin proteins play a key role in recruitment of HORMAD1 to the chromosome axis.

研究分野：染色体動態

キーワード：減数分裂

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

減数分裂は、相同染色体の組換えや2回の分裂など複雑な過程を持つ特別な細胞分裂である。特に減数分裂初期はその後のプロセスすべてに関わる非常に重要な時期である哺乳類の減数分裂は、DSBは相同組換えの過程でDNA配列依存的に修復され、相同染色体の対合が開始する。このDNA配列依存的な認識が、その後の減数分裂の進行に重要な役割を果たしている。また、相同組換えに異常が生じることで間違っただパートナーと対合する突然変異マウスでは、対合異常により減数分裂前期にその進行は停止してしまう。これらのことから、相同染色体が相同パートナーを正確に認識し対合を完了することは、減数分裂の進行において不可欠なメカニズムであると言える。

本研究では、相同パートナーの認識メカニズムの理解を深めるために、最もシンプルな真核生物のモデル動物の一つである酵母において、Hop1タンパク質が相同染色体のペアリングに機能していることに着目した。Hop1のマウス相同体は、HORMAD1であると考えられている。HORMAD1は、減数分裂前期特有の染色体構造体であるシナプトネマ複合体(SC)の相同染色体に局在し、適切なDSB量を調節することで相同染色体の対合を制御している(DSB依存的な認識メカニズム)と考えられている。一方で、申請者は予備実験から、HORMAD1が、相同染色体のDSB非依存的において重要な役割を持っている可能性を見出していた。しかし、HORMAD1や減数分裂特異的コヒーシンRAD21Lが、機能的に相互依存なのか、他にどのような因子が関わっているか、ゲノム上のどこに局在しているか、はDSB非依存的な認識メカニズムを調べる上で重要な意味を持っているが、未解明のままであった。

2. 研究の目的

本研究では、以下のことを明らかにすることを目的とする：**(計画1)** 生化学的な実験から、HORMAD1の相互作用因子を明らかにする。**(計画2)** 生物情報学的な解析から、HORMAD1と相互作用関連因子のゲノム上の局在部位を調べる。**(計画3)** そしてHORMAD1および相互作用因子を欠損することで、それぞれの局在にどういった影響が起きるかを、細胞学的、生化学的、生物情報学的に調べ、HORMAD1および相互作用因子がDSB非依存的な認識メカニズムにおいてどのような機能を持っているかを明らかにする。

3. 研究の方法

(実験1) HORMAD1の相互作用因子を明らかにするために、HORMAD1に対する抗体とマウス精巣ライセートを用いて、質量分析を行う。

(実験2) HORMAD1と相互作用関連因子のゲノム上の局在部位を調べるために、相同染色体の初期ペアリングが起こる時期の細胞を分画し、ChIP-seqおよびCUT&Tag法を行う。

(実験3) HORMAD1および相互作用因子の欠損因子における異常を、細胞学的、生化学的、生物情報学的に調べる。

4. 研究成果

(実験1)では質量分析法を駆使した解析の結果、HORMAD1がシナプトネマ複合体構成因子であるSYCP2と染色体の軸因子であるコヒーシンとよばれる2つのタンパク質と結合することが判明した。そこで(実験3)では、SYCP2と減数分裂期の染色体を構成する主要なRad21L及びRec8のコヒーシンを欠損する突然変異マウスを、ゲノム編集により作出した。その結果、マウスのSYCP2遺伝子の働きをなくしてもHORMAD1がコヒーシンとの結合によって染色体上に現れて機能するのに対して、コヒーシンの働きをなくした場合には、HORMAD1が染色体上に正常に現れなくなることが明らかとなった(図1)。

したがって「相同染色体の対合」に先駆けて、コヒーシンがHORMAD1を呼び寄せる目印として働いて染色体上に繋ぎ留める役割を担うことが明らかとなった。減数分裂の過程で、染色体は「軸」と呼ばれる特殊な芯のような構造によって束ねられており、父方と母方染色体のマッチングと遺伝情報の交換が正常に行われるための場として極めて重要な役割を担っている。したがって、コヒーシン分子が言わば染色体の軸構造の「大黒柱」として働くことがわかりました<引用文献>。

一方で、(実験2)では、HORMAD1及びコヒーシンのゲノム局在を明らかにすることを試みましたが、十分な純度と細胞数を確保できる細胞分画方法の樹立に時間がかかり、目的を達成するに至らなかった。しかしながら、検証実験を行ったところ、生殖細胞特異的に蛍光標識したヒストンタンパク質を発現するTGマウスを利用することで、減数分裂初期の細胞を高い純度で分画する方法を樹立するに至った。さらに、近年開発されたエピゲノム解析手法であるCUT&Tagをより効率的に行う独自の方法も開発するに至り、今後これら独自に樹立した手法を用いることで、(実験2)の目的達成を試みる。

<引用文献>

論文名: Meiotic cohesins mediate initial loading of HORMAD1 to the chromosomes and coordinate SC formation during meiotic prophase.

著者: Y. Fujiwara, Y. Horisawa-Takada, E. Inoue, N. Tani, H. Shibuya, S. Fujimura, R. Kariyazono, T. Sakata, K. Ohta, K. Araki, Y. Okada, *K. Ishiguro

掲載誌: PLOS Genetics (2020) 1009048 DOI: 10.1371/journal.pgen.1009048

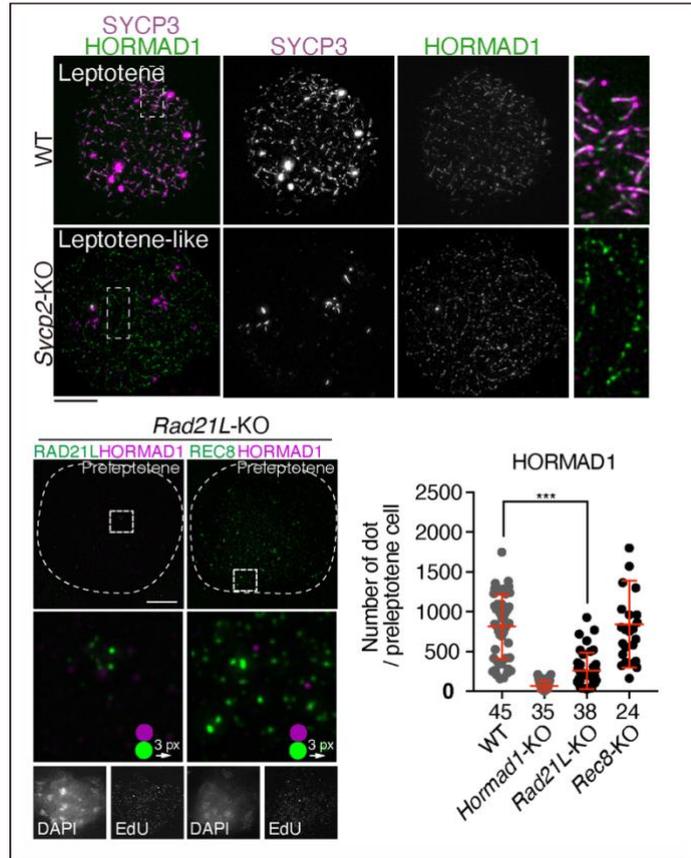


図1、Sycp2-KO マウスと Rad21L-KO マウス精母細胞における HORMAD1 の各局在

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 5件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Zhang Jingjing, Gurusaran Manickam, Fujiwara Yasuhiro, Zhang Kexin, Echbarthi Meriem, Vorontsov Egor, Guo Rui, Pendlebury Devon F., Alam Intekhab, Livera Gabriel, Emmanuelle Martini, Wang P. Jeremy, Nandakumar Jayakrishnan, Davies Owen R., Shibuya Hiroki	4. 巻 11
2. 論文標題 The BRCA2-ME1LB2-BRME1 complex governs meiotic recombination and impairs the mitotic BRCA2-RAD51 function in cancer cells	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 2055
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-020-15954-x	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Zhang Jingjing, Fujiwara Yasuhiro, Yamamoto Shohei, Shibuya Hiroki	4. 巻 10
2. 論文標題 A meiosis-specific BRCA2 binding protein recruits recombinases to DNA double-strand breaks to ensure homologous recombination	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 722
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-019-08676-2	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Fine Alexander D., Ball Robyn L., Fujiwara Yasuhiro, Handel Mary Ann, Carter Gregory W.	4. 巻 30
2. 論文標題 Uncoupling of transcriptomic and cytological differentiation in mouse spermatocytes with impaired meiosis	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Molecular Biology of the Cell	6. 最初と最後の頁 717 ~ 728
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1091/mbc.E18-10-0681	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Pendlebury Devon F, Fujiwara Yasuhiro, Tesmer Valerie M, Smith Eric M, Shibuya Hiroki, Watanabe Yoshinori, Nandakumar Jayakrishnan	4. 巻 24
2. 論文標題 Dissecting the telomere-inner nuclear membrane interface formed in meiosis	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Nat Struct Mol Biol	6. 最初と最後の頁 1064 ~ 1072
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/nsmb.3493	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Yasuhiro Fujiwara, Yuji Tanno, Hiroki Sugishita, Yusuke Kishi, Yoshinori Makino and Yuki Okada	4. 巻 -
2. 論文標題 Preparation of "stress-free" concanavalin A-conjugated Dynabeads magnetic beads for CUT&Tag	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 bioRxiv	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1101/2021.04.04.438416	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yasuhiro Fujiwara, Yuki Horisawa-Takada, Erina Inoue, Naoki Tani, Hiroki Shibuya, Sayoko Fujimura, Ryo Kariyazono, Toyonori Sakata, Kunihiro Ohta, Kimi Araki, Yuki Okada and Kei-ichiro Ishiguro	4. 巻 16(9)
2. 論文標題 Meiotic cohesins mediate initial loading of HORMAD1 to the chromosomes and coordinate SC formation during meiotic prophase	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 PLOS Genetics	6. 最初と最後の頁 e1009048
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pgen.1009048	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計3件(うち招待講演 1件/うち国際学会 1件)

1. 発表者名 藤原靖浩
2. 発表標題 減数分裂前期でのHORMAD 1 とコヒーシンによるクロマチンの制御
3. 学会等名 2019遺伝研研究会 有性生殖に関わる染色体・核動態に関する研究会(招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 藤原靖浩, 澁谷大輝, 岡田由紀, 渡邊嘉典, 石黒啓一郎
2. 発表標題 A HORMAD1-RAD21L complex is required for initial homolog recognition and pairing in mouse spermatocytes
3. 学会等名 第41回日本分子生物学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yasuhiro Fujiwara, Yuki Horisawa-Takada, Naoki Tani, Hiroki Shibuya, Erina Inoue, Kimi Araki, Yuki Okada and Kei-ichiro Ishiguro
2. 発表標題 Meiotic cohesins mediate initial chromatin loading of HORMAD1 and coordinate SC formation during meiotic prophase in mouse
3. 学会等名 Cold Spring Harbor Laboratory Meeting Germ Cell, (国際学会)
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関		
スウェーデン	ヨーテボリ大学		