

平成 22 年 6 月 15 日現在

研究種目：基盤研究（C）
 研究期間：2007～2009
 課題番号：19570173
 研究課題名（和文） 分裂酵母減数分裂における組換え非依存的相同染色体対合機構の解析
 研究課題名（英文） Recombination-independent homologous chromosome pairing in fission yeast
 研究代表者
 丁 大橋（DING DAQIAO）
 （独）情報通信研究機構・未来 ICT 研究センターバイオ ICT グループ・主任研究員
 研究者番号：50359080

研究成果の概要（和文）：相同染色体の相互認識機構の解明を目指し、減数分裂期における相同組換え非依存的相同染色体の対合機構の同定・解析を目的として、本研究では、分裂酵母において、はじめて、*sme2* 遺伝子座は高度な対合活性を有するペアリングサイトであることを示した。さらに *sme2* 遺伝子座の対合活性の解析を進め、*sme2* 遺伝子座のコードする Non-coding RNA の発現が直接に対合に貢献していることを明らかにした。

研究成果の概要（英文）：Pairing of homologous chromosome is an essential step in meiosis that ensures effective homologous recombination and reductional segregation in meiotic division. However, no mechanisms for chromosome specific recognition have ever been found. Here we found a novel double strand break independent pairing site, the *sme2* locus, on the chromosome II of *S. pombe*, which shows extraordinary high and stable pairing activity. The *sme2* gene encodes a meiosis specific non-coding RNA; expression of *sme2* non-coding RNA is essential for the pairing activity.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	2,200,000	660,000	2,860,000
2008 年度	700,000	210,000	910,000
2009 年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：分子生物学

キーワード：相同染色体の対合

1. 研究開始当初の背景

減数分裂は二倍体細胞が染色体の数を半分に減らし、一倍体の生殖細胞を作る過程であ

る。ヒトの生殖細胞では減数分裂期の染色体分配不全より不妊症や流産あるいはダウン

症が引き起こされる。減数分裂の制御機構の解明は基礎生物学においても現代医学においても重要な意味を持つ。

減数分裂期前期の主なイベントとして、DNA の複製、相同染色体の対合、シナプシスと組換えが行われる。そのうち、相同染色体の対合は親世代から受け継いだ相同染色体が互いを見つけて接着する過程であり、正常な対合が相同組換えおよび相同染色体の還元型分配到不可欠である。相同染色体の対合に関する研究は減数分裂の初期段階の観点から非常に重要で、特に相同染色体の相互認識機構がもっともミステリに満ちた問題で、多くの研究者を減数分裂の研究分野に引き込むきっかけでもある。しかし、現状では、研究歴史が長い割に進展が少ない。

我々は染色体特定領域を可視化できる Lac-operator/Lac-repressor-GFP 技術を積極的に導入し、独自に開発した観測技術で生細胞における相同染色体の対合過程や、染色体凝縮度の変化などを高感度 3D タイムラップス蛍光顕微鏡で連続観察することに成功した (Developmental Cell 2004 ; J Cell Biology 2006)。一連の生細胞観察によって、減数分裂期前期のテロメアクラスター形成と核運動が相同染色体対合に必須であることを直接証明し、また、セントロメア領域に相同組換え非依存的対合活性を有することを見出した。

2 . 研究の目的

本研究では、相同染色体の相互認識機構の解明を目指し、分裂酵母減数分裂期における相同組換え非依存的相同染色体の対合機構の同定・解析を目的とする。すでに先行研究で、分裂酵母においても、高等真核生物と同じように、相同組換え非依存的に対合する染色体部位が存在することが見つかかり、それはセントロメア、テロメア及び II 番染色体アーム

上の *sme2* 遺伝子座である。特に、*sme2* 遺伝子座はタンパク質をコードしない Non-coding RNA を転写することによって減数分裂の進行を制御して上、類を見ない高い対合活性を示し、その分子メカニズムを解明できれば、相同染色体の相互認識のメカニズムの解明に寄与することが期待される。

3 . 研究の方法

sme2 遺伝子座がペアリングセンターとして機能するかどうかを調べるために、まず *sme2* 遺伝子座隣接領域の対合活性を計測する。*sme2* 遺伝子座隣接領域の対合活性に *sme2* 遺伝子座が実際にどれほど貢献をしているかを見積もるために、*sme2* 遺伝子を 2 番染色体以外の染色体に移動し、元 *sme2* 遺伝子座隣接領域の対合活性を測定する。さらに、*sme2* 遺伝子座をゲノム上の異なる部位に挿入し、挿入された部位における対合のダイナミクスの変化を計測する。

4 . 研究成果

(1) *sme2* 遺伝子座付近に Lac-operator 反復配列を挿入し、さらに Lac-repressor-GFP により可視化した株で、*sme2* 遺伝子座の対合活性を計測した。その結果、*sme2* 遺伝子座付近も極めて高い対合活性を有することが分かった。また、*sme2* 遺伝子座を破壊することによって、その領域の対合活性が下がったことから、高い対合活性は *sme2* 遺伝子座存在の有無に直接に依存することが分かった。DSB 形成できない *rec12* 破壊株においても野生株並の対合活性があることから、*sme2* 遺伝子座の対合は相同組換えには非依存的であることが分かった。さらに、*sme2* 前後の DNA 領域を含む *sme2* 遺伝子座をゲノム上他の場所に挿入し、挿入された領域の対合活性を促進できることを明らかにしたから、*sme2* 遺伝子座は確かに相同組換え非依存的なペアリ

ングホットスポットであることを確立した。

(2) *sme2* 遺伝子のプロモーター部分を破壊すると、対合活性がなくなることから、*sme2* 遺伝子の発現は *sme2* 遺伝子座の対合活性に必要である。一方、Mei2-IacI 融合タンパク質が対合促進の能力がないことから、対合促進には *sme2* RNA をコートする DNA 断片、あるいは Mei2 タンパク質ではなく、*sme2* Non-coding RNA の発現が必須である。

(3) *sme2* 遺伝子の 3' 側領域を削ると、*sme2* の減数分裂における機能が維持されるにもかかわらず、対合活性が著しく減少し、Mei2 ドットも分散した。さらに、*sme2* 遺伝子の 3' 側領域を含まない DNA 断片をゲノム上他の場所に挿入しても対合活性を促進できなかった。また、リアルタイム PCR および 3'-RACE の結果、*sme2* 遺伝子の転写産物は文献で記述されている短い断片のほか、長い転写産物も存在しており、その転写産物こそ対合活性に必要とされることが明らかになった。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計2件)

Hayashi A, Ding DQ, Tsutsumi C, Chikashige Y, Masuda H, Haraguchi T and Hiraoka Y (2009) Localization of gene products using a chromosomally tagged GFP-fusion library in the fission yeast *Schizosaccharomyces pombe*. 査読有、Genes Cells. 14, 217-225

Ding DQ, Haraguchi T, Hiraoka Y. (2010) From meiosis to postmeiotic events: Alignment and recognition of homologous chromosomes in meiosis. 査読有、FEBS J. 277 (3), 565-570

[学会発表](計14件)

丁 大橋, Recombination-independent homologous chromosome pairing in meiosis of fission yeast、第59回日本細胞生物学会大会、2007年5月28日、福岡県福岡市福岡国際会議場・日本

林 亜紀, Analysis of nuclear organization by making a new GFP library in fission yeast、第59回日本細胞生物学会大会、2007年5月28日、福岡県福岡市福岡国際会議場・日本

丁 大橋, Recognition and pairing of homologous chromosome in fission yeast、The Fourth International Fission Yeast Meeting、2007年6月11日、Copenhagen 大学・Copenhagen Denmark

丁 大橋, Recognition and pairing of homologous chromosome in fission yeast、EMBO Meiosis Meeting、2007年9月14日、神奈川県湘南国際村センター・日本

丁 大橋, A recombination-independent hot spot of homologous chromosome pairing at the *sme2* locus in fission yeast、第60回日本細胞生物学会大会、2008年6月29日、神奈川県横浜市パシフィコ横浜・日本

丁 大橋, Contribution of a non-coding RNA in formation of a double-strand break independent pairing hotspot in meiosis of *S. pombe*、第31回日本分子生物学会年会・第81回日本生化学会大会 合同大会、2008年12月9日、兵庫県神戸市神戸国際会議場・日本

平岡 泰, Chromatin and nuclear structures in fission yeast、第31回日本分子生物学会年会・第81回日本生化学会大会 合同大会、2008年12月10日、兵庫県神戸市神戸国際会議場・日本

丁 大橋, A recombination-independent

hot spot of homologous chromosome pairing at the *sme2* locus in fission yeast、The American Society for Cell Biology 48th Annual Meeting、2008年12月15日、The Moscone Center San Francisco, USA

丁 大橋、分裂酵母相同染色体対合における*sme2*ホットスポットの解析、第26回染色体ワークショップ、2009年1月27日、兵庫県姫路市ウェルサンピア姫路ゆめさき・日本

丁 大橋、A non-coding RNA mediated homologous chromosome pairing site in fission yeast、The 5th International Fission Yeast Meeting POMBE 2009、2009年10月30日、東京都国立オリンピック記念青少年総合センター・日本

平 岡泰、Large-scale localization of protein components of nuclear structures in fission yeast、The 5th International Fission Yeast Meeting POMBE 2009、2009年10月30日、東京都国立オリンピック記念青少年総合センター・日本

平 岡泰、Movements of chromosomes for finding their homologous partners in meiosis、第32回日本分子生物学会年会、2009年12月10日、神奈川県横浜市パシフィコ横浜・日本

丁 大橋、分裂酵母相同染色体対合における*sme2*ホットスポットの解析、第32回日本分子生物学会年会、2009年12月12日、神奈川県横浜市パシフィコ横浜・日本

平 岡泰、減数分裂で相同染色体が相互認識する仕組み、第26回染色体ワークショップ、2010年1月21日、静岡県御殿場時之栖・日本

〔図書〕(計1件)

丁 大橋、Springer、Genome Dynamics & Stability (3) 2007、pp231-247

〔その他〕

ホームページ等

<http://www2.nict.go.jp/w/w103/w131103/CellMagic/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

丁 大橋 (DING DAQIAO)

(独)情報通信研究機構・未来 ICT 研究センターバイオ ICT グループ・・・主任研究員

研究者番号：50359080

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：