

平成 22 年 5 月 20 日現在

研究種目：特定領域

研究期間：2005～2009

課題番号：17080004

研究課題名（和文） 染色体ネットワークと相同組換えの連携の分子メカニズム

研究課題名（英文）

Molecular mechanism of the connection between chromosome networks and recombination

研究代表者

篠原 彰 (Akira Shinohara)

大阪大学・蛋白質研究所・教授

研究者番号：00252578

研究成果の概要（和文）：

減数分裂期に起こるゲノムの変化は相同組換えにより生じる。組換えは親の持つ遺伝情報を混ぜ合わせることで多様性を生み出すばかりでなく、減数第1分裂における相同染色体の分配に必須であることも知られている。減数分裂期の相同組換えは、体細胞分裂期の組換えと異なり、複雑な制御を受けていると言った特徴がある。本研究では、減数分裂期における組換えに関わるいくつかの因子を同定することで、そのメカニズムの解明を行った。特に、染色体運動と構造が組換えを制御しているという仕組みを明らかにした。

研究成果の概要（英文）：

Genetic change in meiosis is driven by homologous recombination. The recombination not only generates diversity in the genome, but also plays an essential role in chromosome segregation at meiosis I. Meiotic recombination is mechanistically different from that in mitosis with more complex regulation. From this study, we have identified several key proteins/genes in the recombination which tell us a new idea on the mechanisms of meiotic recombination. Particularly, we have identified an active role of chromosome dynamics and structure in the control of the recombination.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2005年度	26,400,000	0	26,400,000
2006年度	26,400,000	0	26,400,000
2007年度	24,600,000	0	24,600,000
2008年度	24,600,000	0	24,600,000
2009年度	22,800,000	0	22,800,000
総計	124,800,000	0	124,800,000

研究分野：分子生物学

科研費の分科・細目：分子生物学

キーワード：減数分裂、組換え、染色体

1. 研究開始当初の背景

DNA の交換反応である組換えは、ゲノムの傷を修復するばかりでなく、ゲノムの再構築を促進する。ゲノムの変化には体細胞分裂期、あるいは、減数分裂期で起きる場合がある。体細胞分裂期の変化は癌の原因となるゲノムの不安定化の一要因となる一方、減数分裂期の変化は、親が持っていなかった新しいゲノム変化を子孫に作り出し、新生遺伝的疾患の原因になると考えられている。しかし、その分子機構については不明な点も多い。

減数分裂期に起こるゲノムの変化は相同組換えによって積極的に生じる。組換えは親の持つ遺伝情報を混ぜ合わせることで多様性を生み出すばかりでなく、減数第1分裂における相同染色体の分配に必須であることも知られている。減数分裂期の相同組換えは、体細胞分裂期の組換えと異なり、交叉型組換え体を生じること、姉妹染色体間より相同染色体間で起きること、その数と分布が染色体あたり制御を受けていると言った特徴がある。減数分裂期の組換えの欠損は、配偶子の異数性を生み出す、ヒトでは異数体による流産、そして、ダウン症に代表される異数体病の原因になる。

2. 研究の目的

減数分裂期の組換えのメカニズムを明らかにするために、減数分裂期の組換えに関わる新しい遺伝子やタンパク質、タンパク質複合体を同定する。

DNA 二重鎖切断(DSB)は、真核生物においては相同組換え(HR)と非相同末端結合(NHEJ)の2つの異なる経路によって修復されることが知られている。Error free のHRは鋳型となる姉妹染色分体が必要不可欠であり、一方、切れたDNA末端を再結合するNHEJは鋳型

を必要としない代わりに変異を固定する危険性をもつ Error prone の修復系である。細胞がどのようにこの2つの修復経路を使い分けているのか、その制御メカニズムを明らかにするために解析を行っている。

3. 研究の方法

(1) 酵母の減数分裂期特異的に発現する遺伝子のデータベースから、上流配列に減数分裂期特異的な転写因子の結合配列を持つものを選び、その欠失株を作成し、減数分裂期の表現型を詳細に解析する。特に、組換えに関わる因子の局在や減数分裂期組換えを調べ、欠損があるものを選抜する。

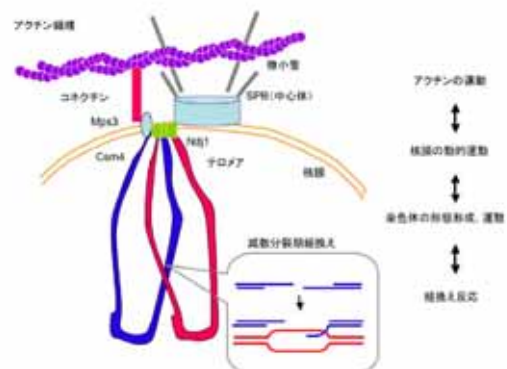
(2) 体細胞分裂期の細胞周期に重要な役割を果たす因子の減数分裂期での機能を知るために、減数分裂期特異的に遺伝子の機能を明らかにする。

(3) NHEJに関わる因子のリン酸化を調べ、そのリン酸化部位を同定し、変異株を作成し表現型を解析する。

4. 研究成果

(1)

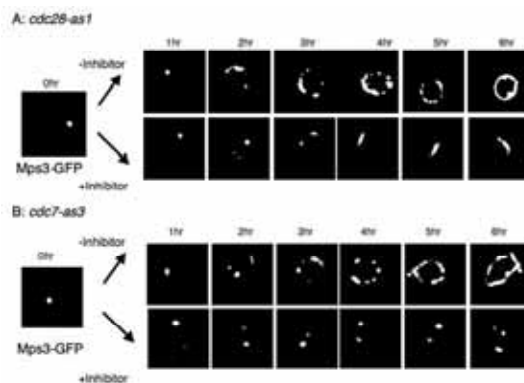
減数分裂期の染色体の運動に関わる新しいタンパク質Csm4を見出し、染色体の運動が組換え反応を制御する新しい概念を提唱した。



減数分裂期において染色体形態形成と組換えの両者を制御する新規複合体ZMMを同定した。特にZMM複合体は組換えの制御と保証の2つに関わることを明らかにし、染色体と組換えの新たな連携を明らかにした。

(2)

減数分裂期において染色体形態形成にサイクリン依存性キナーゼCdkが必要であることを明らかにした。



減数分裂期において染色体形態形成にタンパク質の分解に関与するユビキチン化酵素が関わることを明らかにした。タンパク質のユビキチン化が直接染色体の形成を制御するという新しい発見である。

相同組換えに関わるRad52がRecAホモログRad51の機能を助けるだけでなく、組換えの後期過程のstrand annealingに働くことを明らかにした。

(3) NHEJに必須なDNA ligaseのサブユニットLif1タンパク質は細胞周期依存的にサイクリン依存性キナーゼ(CDK)によってリン酸化制御を受けることを明らかにした。このリン酸化は細胞周期を通して制御されており、相同組換えのバックアップとしてNHEJが機能する際のDSB末端の加工の制御に関わっている可能性を示した。

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22件)

1. Luo, J.P., Oh, S. D., Shinohara, M., Shinohara, A. and *Hunter, N. (2008) Rad52 promotes post-invasion steps of meiotic double-strand-break-repair. *Mol. Cell.* 29, 517-552.

2. Shinohara, M., Oh, S.D., Hunter, N. and *Shinohara, A. (2008) Crossover assurance and crossover interference are distinctly regulated by the ZMM proteins during yeast meiosis. *Nature Genet.* 40, 299-309.

3. Matsuzaki, K., Shinohara, A. and *M. Shinohara. (2008) FHA domain of yeast Xrs2, a homologue of human Nbs1, promotes non-homologous end joining through the interaction with a Ligase IV partner protein, Lif1. *Genetics.* 179, 213-225.

4. Conrad, M.N., Lee, C.-Y., Chao, G., Shinohara, M., Kosaka, H., Shinohara, A., Conchello, J.-A. and *M. E. Dresser. (2008) Telomeres drive rapid movements regulated by chromosome status in meiotic prophase. *Cell.* 133, 1175-1187.

5. Kosaka, H., Shinohara, M. and *A. Shinohara. (2008) Csm4-dependent telomere movement on nuclear envelope promotes meiotic recombination. *PLoS Genetics.* 4. e1000196.

和文総説、書物など

1. 減数分裂期組換えの制御の分子メカニズム (2009) *篠原美紀、篠原 彰 蛋白質核酸 酵素 54, 466-471

2. 減数分裂期のDNA交換反応と染色体の形態形成のしくみ (2008) *篠原 彰, 篠原美紀, 蛋白質 核酸 酵素 53, 1315-1325

3. タンパク質リン酸化を介したDNA二重鎖切断修復制御の分子メカニズム (2008) *篠原美紀, 生化学 80, 1029-1033, 2008

4. 減数分裂期のDNA交換反応と染色体の形態形成のしくみ (2008) 篠原 彰, 篠原美紀, 蛋白質 核酸 酵素 53, 1315-1325

5. 減数分裂期染色体高次構造体シナプトネマ複合体の機能 (2007) *篠原美紀, 遺伝 21, 262-264

6. 減数分裂期の相同組換えに働く新規蛋白質複合体の機能 (2007) *篠原 彰, 生物物理 47, 100-106

7. 染色体上の組換えとその制御 (2007) *篠原 彰, 篠原美紀, 実験医学 25, 712-717

〔学会発表〕(計 61 件)

1. EMBO workshop on Meiosis, CDK and DDK promote chromosome movement in meiosis. Akira Shinohara, IIsure sur la Sorgue, France September 16-23, 2009
2. FASEB meeting on recombination and genome arrangement. Akira Shinohara, A new Rad51 mediator. Snowmass, USA, August 10-15, 2009
3. GRC meeting on Meiosis. Akira Shinohara, SCF promote synaptonemal complex formation. New Hampshire, USA June 8-13, 2008
4. EMBO workshop on recombination. Akira Shinohara, Regulation of Rad51-assembly. II Ciocco, Italy, May 10-15, 2008
5. The 3R meeting. Akira Shinohara, Meiotic hyper-mutations. Tsumagoi, Japan, October 27-30, 2008
6. EMBO workshop on Evolutionary and Environmental genomics of yeast. Akira Shinohara, Meiotic hyper-mutations Heidelberg, Germany October 1-5, 2008
7. EMBO-JAPAN workshop on Meiosis. Akira Shinohara, The proteins involved in meiotic recombination. Hayama, Japan September 16-23, 2007

8. FASEB meeting on recombination and genome arrangement. Akira Shinohara, Proteins which promote homologous recombination. Snowmass, USA, August 10-15, 2007

9. GRC meeting on Meiosis. Akira Shinohara, Crossover control in meiosis of yeast. New Hampshire, USA June 8-13, 2006

10. EMBO workshop on recombination. Akira Shinohara, Control of Rad51-assembly. Seillac, France, May 10-15, 2006

11. EMBO workshop on Meiosis. Akira Shinohara, Spo16 promotes crossover control. Madrid Spain, September 16-23, 2005

12. FASEB meeting on recombination and genome arrangement. Akira Shinohara, Mei5-Sae3 promotes Dmc1-dependent recombination. Snowmass, USA, August 10-15, 2005

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕
出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等
<http://www.protein.osaka-u.ac.jp/genome/Shinohara-HP-index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者
篠原 彰 (Akira Shinohara)
大阪大学・蛋白質研究所・教授
研究者番号：00252578

(2) 研究分担者
篠原 美紀 (Miki Shinohara)
大阪大学・蛋白質研究所・准教授
研究者番号：80335687