

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 6 月 12 日現在

機関番号：82636

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2010～2012

課題番号：22370004

研究課題名（和文） 減数分裂前期の相同染色体対合機構に寄与する分子メカニズムの解析

研究課題名（英文） Molecular mechanism of homologous chromosome pairing in meiotic prophase

研究代表者

丁 大橋 (DING DAQIAO)

(独)情報通信研究機構・未来 ICT 研究所バイオ ICT 研究室・主任研究員

研究者番号：50359080

研究成果の概要（和文）：減数分裂における相同染色体の対合は相同組み換えと還元型染色体分配にとって非常に重要である。減数分裂時における相同組換えには、まず相同染色体が互に見つけて対合することが必要である。しかし、相同染色体同士が如何にしてお互いを認識するのかは全く解明されていない。本研究では、分裂酵母の減数分裂特異的発現する meiRNA-L という非コード RNA が染色体上に RNA ドットを形成し、早期の相同染色体認識・対合を促進することを発見した。

研究成果の概要（英文）：Pairing of homologous chromosome is an essential step in meiosis to ensure effective homologous recombination and reductional segregation in meiotic division. However, no mechanisms for chromosome specific recognition have ever been found. Here we found a meiotic-specific non-coding RNA, meiRNA-L, which forms an RNA dot on chromosome, plays an important role in recognition and pairing of homologous chromosome in early stage of meiosis.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	5,600,000	1,680,000	7,280,000
2011年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2012年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
総計	7,800,000	2,340,000	10,140,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：基礎生物学・遺伝・ゲノム動態

キーワード：染色体・遺伝学・減数分裂・RNA

1. 研究開始当初の背景

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に不可欠である。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。近年、我々は染色体特定領域を可視化できる技術を導入し、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。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、相同組換えが相同染色体対合に必須であることを直接示した。しかし、依然として相同染色体がどのようなメカニズムで相互認識できるのかについて不明である。

我々は分裂酵母の第2染色体アーム上の *sme2* 遺伝子座領域が高い対合活性を有することを見つけた。*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対合ホットスポットであることを確立した。

2. 研究の目的

本研究では、相同染色体の相互認識機構を解明するために、分裂酵母の *sme2* 対合ホットスポットの分子メカニズムを解析するとともに、新しい対合ホットスポットの同定を目指す。

3. 研究の方法

sme2 対合ホットスポットの分子メカニズムを解析するため、*sme2* 遺伝子の転写産物である非コード RNA の meiRNA を可視化し、生細胞で RNA の挙動を観察する。また、既知の *sme2* 共局在因子を調べ、破壊することによって、*sme2* 対合ホットスポットに寄与する因子を同定する。また、新規の対合ホットスポットを同定することために、既知の *sme2* 対合ホットスポットの特性から共通の性質を持つ染色体ローカスを網羅的に LacO/LacI-GFP システムにより可視化し、野生株および DSB 形成欠損株で対合の頻度を測定する。

4. 研究成果

(1) U1A-tag/U1Ap-GFP の RNA 標識システムを用いて、meiRNA を GFP と mCherry によって生細胞で可視化した。meiRNA ドットが減数分裂期前期において *sme2* 遺伝子座から離れず、安定に一つのドットに集積することが分かった。*sme2* 遺伝子の 3' 側を破壊すると、meiRNA ドットが複数の小さいドットに分散した。このような変異株では *sme2* サイトの対合が大きく阻害されたことから、meiRNA ドットの安定存在が対合に必要不可欠であることが示唆された。一方、*sme2* の 5' 側 500bp は Me12 と結合するドメインとみられ、その部分を破壊すると、Me12 ドットが作れなくなったが、*sme2*-RNA ドットが安定に存在し、対合も野生株並みに行う。このことから、Me12 タンパク質は対合に必要ではなく、*sme2*-RNA の安定性に寄与することが示唆された。

(2) meRNA に強く結合する Mmi1 因子が存在することが知られている。Mmi1 は減数分裂特異的メッセンジャーRNA を選択的に除去することによって減数分裂の開始を制御するタンパク質である。東大山本研との共同研究で、meRNA も Mmi1 の制御を受けること、さらに Mmi1 の変異株では、meRNA の量が増えることがわかった。Mmi1 の変異株で、*sme2* サイトの対合率が野生株よりも大幅に促進されたことから、対合には染色体上の局所に集積する RNA の量に比例することが示唆された。ここまでの研究成果をまとめ論文は Science 誌で発表した。

(3) ゲノムワイドに *lacO* 反復配列を挿入し、網羅的に染色体の対合のダイナミクスを調べて、特に減数分裂期前期の早いタイミングで、且つ減数分裂期組換えの開始反応である DNA 二重鎖切断 (DSB) 非依存的に高対合頻度を示し染色体ローカスを発見することを目指しているが、これまでに 38 箇所の標識ローカスの対合活性を調べた結果、一部のローカスが高い対合活性を示すものの、すべて DNA 二重鎖切断因子に依存した対合活性で、目的とするローカスの発見に至らなかった。新規の対合ホットスポットの発見は今後の研究課題として継続していく予定である。

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 5 件)

- ① Ding DQ, Haraguchi T, Hiraoka Y. (2012) Chromosomally-retained RNA mediates homologous pairing. 査読有、Nucleus, Volume 3 (6): 516-519
- ② Ding DQ, Okamasa K, Yamane M, Tsutsumi C, Haraguchi T, Yamamoto M, and Hiraoka Y. (2012) Meiosis-specific non-coding

RNA mediates robust pairing of homologous chromosomes in meiosis. 査読有、Science, 336(6082): 732-736.

- ③ Yamashita A, Shichino Y, Tanaka H, Hiriart E, Touat-Todeschini L, Vavasseur A, Ding DQ, Hiraoka Y, Verdel A, and Yamamoto M. (2012) Hexanucleotide motifs mediate recruitment of the RNA elimination machinery to silent meiotic genes. 査読有、Open Biology, Mar 21; 2:120014 doi:10.1098/rsob.120014
- ④ Ding DQ (2011) A rush hour towards sexual reproduction: The chromosome dynamics during meiosis. 査読無 Chinese Science Bulletin, No. 33, Vol. 56, 3500-3503
- ⑤ Asakawa H, Kojidani T, Mori C, Osakada H, Sato M, Ding DQ, Hiraoka Y and Haraguchi T (2010) Virtual breakdown of the nuclear envelope in fission yeast meiosis. 査読有、Curr. Biol. 20: 1919-1925

[学会発表] (計 8 件)

- ① 丁 大橋、分裂酵母減数分裂期染色体構造の相同染色体対合における役割、第35回日本分子生物学会年会、2012年12月12日、福岡国際会議場、福岡県・日本
- ② 丁 大橋、相同染色体認識における非コードDNAの役割、新学術研究領域「ゲノムを支える非コード領域の機能」第三回領域会議、2012年06月15日、御殿場高原時之栖、静岡県・日本
- ③ 丁 大橋、分裂酵母減数分裂期の染色体対合に寄与するノンコーディングRNA、第34回日本分子生物学会年会、2011年12月16日、パシフィコ横浜、神奈川県・日

- 本
- ④ 丁 大橋、Meiosis-specific non-coding RNA mediates robust pairing of homologous chromosomes in meiosis、Pombe2011 The 6th International Fission Yeast Meeting、2011年06月26日、Martin Conference Center、ボストン・アメリカ
 - ⑤ 丁 大橋、A non-coding RNA-dependent meiotic homologous chromosome pairing site in fission yeast、International Symposium on the Physicochemical Field for Genetic Activities、2011年01月24日、The Westin 淡路、兵庫県・日本
 - ⑥ 丁 大橋、Non-coding RNA mediates robust pairing of homologous chromosomes in meiosis、The American Society for Cell Biology Annual Meeting、2010年12月12日、Philadelphia Pennsylvania Convention Center・アメリカ
 - ⑦ 丁 大橋、分裂酵母相同染色体認識と対合に寄与する non-coding RNA、第33回日本分子生物学会年会、2010年12月8日、神戸ポートアイランド、神戸市・日本
 - ⑧ 丁 大橋、減数分裂前期の相同染色体対合に寄与する非コードRNA、第62回日本細胞生物学会大会、2010年5月21日、大阪国際会議場、大阪府・日本

[その他]

ホームページ等

http://www2.nict.go.jp/advanced_ict/bio/w131103/CellMagic/

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 研究所バイオ ICT 研究室・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：