

平成 30 年 6 月 11 日現在

機関番号：32641  
研究種目：基盤研究(C) (一般)  
研究期間：2014～2017  
課題番号：26440104  
研究課題名(和文) 減数分裂の制御機構

研究課題名(英文) Regulation of meiosis

研究代表者

村上 浩士 (Murakami, Hiroshi)

中央大学・理工学部・教授

研究者番号：80262020

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：減数分裂次のDNA複製と遺伝子組換え開始、さらには第一減数分裂開始を連携するチェックポイント因子の中でも、最も下流に位置すると考えられるCds1キナーゼのターゲットの一つが、転写因子Mei4であることを明らかにした。実際、Cds1キナーゼが認識する配列を変異させた株では、DNA障害をしているにもかかわらず、遺伝子組換え開始の指標である二重鎖切断が観察できたが第一減数分裂は起こらなかった。meiRNAの破壊株はフェロモンシグナルがないと、減数分裂前DNA合成ができないが、転写活性化因子Rep1を過剰発現すると抑圧された。

研究成果の概要(英文)：We have been screening for the possible candidates of the meiotic DNA replication checkpoint linking pre-meiotic DNA replication and recombination. We found that meiotic forkhead transcription factor Mei4 is required for this checkpoint. However, we have not found any new factors of the meiotic DNA replication checkpoint linking pre-meiotic DNA replication and the first meiotic division. We have shown that meiRNA which is a non-coding RNA is required for pre-meiotic S phase in the absence of the pheromone signal. We show that meiRNA regulates the expression of the activator of the transcription factor.

研究分野：分子生物学

キーワード：減数分裂 細胞周期 チェックポイント DNA複製 遺伝子組換え

### 1. 研究開始当初の背景

減数分裂の正確な進行の重要性は認識されているものの、体細胞分裂から減数分裂への移行や減数分裂の細胞周期制御機構、遺伝子組み換えの開始の制御機構など重要な問題については未だ明らかになっていない点が多い。これらの解明は基礎生物学のみならず、不妊原因の特定及び治療法の開発などにも重要である。本研究は、減数分裂研究の優れたモデル生物である分裂酵母を用いて、上記課題に取り組むものである。

### 2. 研究の目的

減数分裂は配偶子形成と生物の遺伝的多様性を生み出す重要なイベントであるがその制御機構に関しては不明な点が多い。本研究では、体細胞分裂から減数分裂への移行、及び減数分裂に特有の諸現象を協調的に進行させる制御機構の解明を目指す。特に、(1)性分化と減数分裂の開始の制御機構(2)DNA複製と遺伝子組み換えの開始の制御機構、(3)DNA複製と第一減数分裂開始の制御機構、及び(4)転写因子 Meil4 による第一減数分裂開始と遺伝子組換え開始の制御機構を分裂酵母をモデルに研究することにより、性分化の開始から第一減数分裂までの減数分裂の制御機構を明らかにする。

### 3. 研究の方法

- (1) 性分化と減数分裂の開始の制御機構においては、トランスクリプトーム及びChIP-chip(seq)解析を行い、Fkh2のターゲットを同定する。
- (2) DNA複製と遺伝子組み換えの開始の制御機構においては、Cds1のターゲットの探索のため、two-hybridスクリーニングと物理的相互作用する因子のスクリーニングを行う。
- (3) DNA複製と第一減数分裂開始の制御機構においては、上記(2)の方法に加え、Cdc2との関係を調べる。

(4) 転写因子 Meil4 による第一減数分裂と遺伝子組み換えの制御機構においては *wee1+* 遺伝子が Meil4 のターゲットになっている可能性を探る。さらに、Meil4 と Cds1 の関係を分子遺伝学的かつ生化学的手法を用いて解析する。

### 4. 研究成果

減数分裂は遺伝的多様性を生み出し、配偶子形成に必須であるがその制御機構に関しては不明な点が多い。本研究では、減数分裂に特有の諸現象を協調的に進行させる制御機構の解明を目指す。特に、(1)減数分裂前 DNA複製と遺伝子組換え開始の制御機構、(2)減数分裂前 DNA複製と第一減数分裂開始の制御機構、(3)フォークヘッド型転写因子による第一減数分裂開始と遺伝子組換え開始の制御機構、及び(4)減数分裂前 DNA複製の開始の制御機構を分裂酵母をモデルとして研究することにより、減数分裂過程の開始から減数分裂前 DNA合成及び第一減数分裂までの減数分裂の制御機構を明らかにすることを目的とした。(1)から(3)に関して、DNA複製と遺伝子組換え開始、さらには第一減数分裂開始を連携するチェックポイント因子の中でも、最も下流に位置すると考えられる Cds1 キナーゼのターゲットの一つが、転写因子 Meil4 であることを明らかにした。実際、Cds1 キナーゼが認識する配列を変異させた株では、DNA阻害をしているにもかかわらず、遺伝子組換え開始の指標である二重鎖切断が観察できたが第一減数分裂は起こらなかった。他のフォークヘッド型転写因子に関しては、解析を継続中である。その原因は、破壊株が減数分裂に効率良く進行しないため、減数分裂の表現型が解析できてないからである。(4)に関しては、meiRNAの破壊株はフェロモンシグナルがないと、減数分裂前 DNA合成ができないが、転写活性化因子 Rep1 を過

剰発現すると抑圧された。さらに解析を続けた結果、rep1 mRNA は Mmi1 により分解制御されている可能性が高まった。

#### 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 4 件 )

Yamada S, Kugou K, Ding DQ, Fujita Y, Hiraoka Y, H. Murakami, Ohta K, Yamada T. The histone variant H2A.Z promotes initiation of meiotic recombination in fission yeast. Nucleic Acids Res. 2018 Jan 25;46(2):609-620. doi: 10.1093/nar/gkx1110. 査読あり

Hokuto Ohtsuka, Masahiro Takinami, Takafumi Shimasaki, Takahide Hibi, Hiroshi Murakami, and Hirofumi Aiba Sulfur restriction extends fission yeast chronological lifespan through Ecl1 family genes by downregulation of ribosome」 Mol Microbiol. 2017 Apr 7. doi: 10.1111/mmi.13686. 査読あり

Yamada S, Okamura M, Oda A, Murakami, H Ohta K, Yamada T. Correlation of Meiotic DSB Formation and Transcription Initiation Around Fission Yeast Recombination Hotspots. Genetics. 2017 Apr 10. pii: genetics.116.197954. doi: 10.1534/genetics.116.197954. 査読あり

Takafumi Shimasaki, Hokuto Ohtsuka, Chikako Naito, Kenko Azuma, Takeshi Tenno, Hidekazu Hiroaki, Hiroshi Murakami & Hirofumi Aiba

Ecl1 is a zinc-binding protein involved in the zinc-limitation-dependent extension of chronological life span in fission yeast Molecular Genetics and Genomics, 2017 Apr;292(2):475-481. 査読あり  
DOI 10.1007/s00438-016-1285-x

[ 学会発表 ] ( 計 2 件 )

Yuuki Akiya, Atsushi Ogihara, Hirofumi Aiba and Hiroshi Murakami Regulation of *mei4+* expression during mitotic cell cycle in fission yeast 9<sup>th</sup> International Fission yeast meeting, Banff, Canada, May, 2017

小菅清二、山田貴富、饗場浩文、村上浩士 減数分裂時のDNA複製と相同組換えを連携するチェックポイント  
第50回酵母遺伝学フォーラム研究報告会、東京大学、弥生講堂、2017年9月

[ 図書 ] ( 計 1 件 )

山田貴富、村上浩士、国際文献社、化学と生物 vol 56, No.4、生体内における減数分裂組換えの開始制御、p262-271, 2018

[ 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.bio.chuo-u.ac.jp/murakami/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

村上 浩士 (MURAKAMI Hiroshi)  
中央大学・理工学部・教授  
研究者番号：80262020

(2) 研究分担者

( )

研究者番号：

(3) 連携研究者

( )

研究者番号：

(4) 研究協力者

( )