

論文の内容の要旨

論文題目

Caenorhabditis elegans における
減数分裂二重鎖 DNA 切断修復の分子機構の解明

氏名 林 康子

減数分裂において、確実に染色体を受け継いで行く為には、相同染色体間で組換えの交叉が正確に行われる事が必須である。相同染色体間の組換えは両極への分離にも必要であるが、重要な遺伝情報を持っている DNA を傷つけないという危険をはらんでいる。よって、有性生殖をおこなう生物にとっては、重要かつ慎重におこなわなければならない過程である。このため、相同染色体間での交叉を必ず形成するというメカニズムを持っている一方で、必要以上に二重鎖切断を行わないよう限定する機構と、減数分裂の細胞分裂の前に二重鎖切断を修復するという機構も持ち合わせている。

本研究において、*C. elegans* の *rad-50* 変異体を観察することにより、減数分裂の二重鎖切断修復機構においては、特別な二重鎖切断修復機構の獲得と喪失が関わっていることが明らかとなった。減数分裂前の生殖細胞では、自発性または放射性による二重螺旋切断の修復の際に修復

タンパク質 RAD-51 が修復部位を修復する際に RAD-50 は必要ではない。しかし、減数分裂が始まり減数分裂染色体軸構造の形成と同時に、特別な減数分裂二重鎖 DNA 切断修復機構が働くということが明らかとなった。この減数分裂特有の二重鎖 DNA 切断修復機構の特徴として、RAD-51 の集積が RAD-50 依存であることと、二重鎖切断を相同染色体間の交叉により修復するという二点が挙げられる。さらに、生殖細胞は減数分裂前期パキテン中期からパキテン後期で急速に減数分裂特有の二重鎖切断修復機構から解き放たれることも明らかとなった。この減数分裂後の二重鎖 DNA 切断修復機構の特徴として、RAD-50 非依存的に RAD-51 が働き、二重鎖切断を修復する際に相同染色体間の交叉により修復することができないという特徴がある。この二重鎖切断修復機構の切り替えは、MAP kinase により引き起こされる減数分裂前期の始まりによっており、染色体構造の形態変化とも時を同じくしておこることが明らかとなった。これらのオンとオフの少なくとも二回の二重鎖切断修復機構の切り替えは、ゲノムを傷つけることなく減数分裂の交叉形成を行うことができるように発生的にプログラムされていると考えられる。

また、RNA 干渉 (RNA interference) を用いてシナプトネマ複合体中央因子のタンパク質 SYP-1 の転写レベルを減少させ、SNP マーカーを用いて組換え分布の解析を行い、さらには免疫染色と injection による X 染色体の S-phase ラベリング方法を組み合わせることにより、実際の SYP-1 タンパク質の分布の解析を行った。SYP-1 が、存在する箇所での組換え形成を促進すること、協調的な重合が行われておりシナプス開始場所から離れた部分での組換え形成を可能にすること、組換え数を制限し阻害するということ、という三つの役割を持ち影響を与える事によって組換えが形成されていることが示唆された。これらの役割が相互に関わりを持ちつつ、シナプトネマ複合体の集結を制御して、組換え形成を行っているということは、染色体および生物の進化において重要な要素であると考えられる。

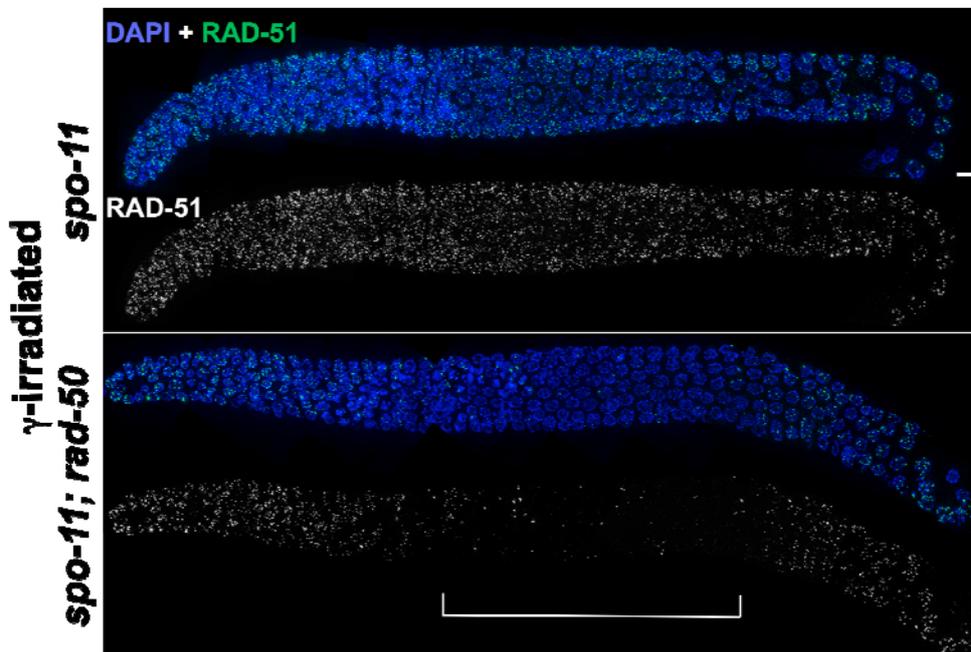


図1 *spo-11* mutant と *spo-11;rad-50* mutant の RAD-51 免疫染色
減数分裂特有修復部位では、 RAD-51 の集積は RAD-50 依存である。

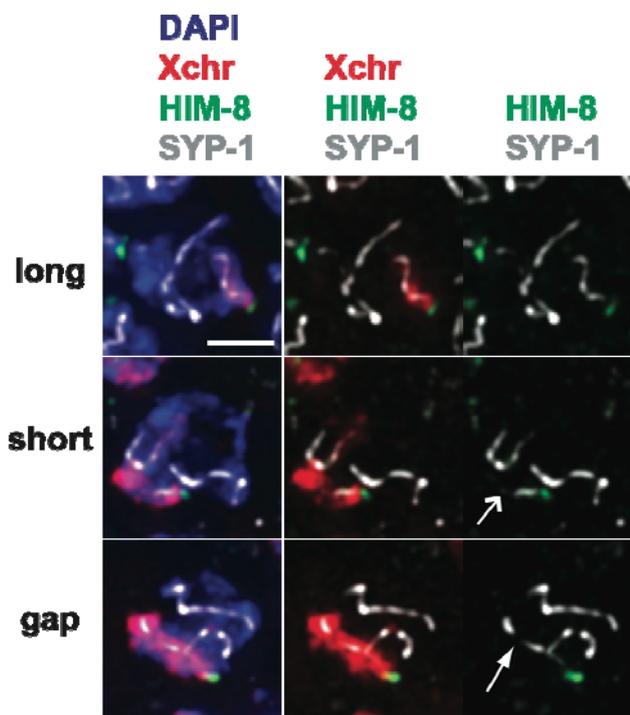


図2 *syp-1(RNAi)*線虫の X 染色体上での SYP-1 の分布 (免疫染色法と X 染色体ラベリング法)