

# 生殖細胞における DNA 切断制御の解明

## —よい塩梅に DNA を切断する仕組み—

### 概要

卵子や精子といった生殖細胞は、減数分裂と呼ばれる特殊な細胞分裂によって作られます。減数分裂を制御するタンパク質に不具合が生じると、正常な卵子や精子を作ることができません。人間の場合、減数分裂における不具合は不妊、流産などの問題や、染色体数異常につながります。現代社会では適齢期夫婦の約 20%が不妊問題を抱えていると言われており、減数分裂の原理の理解は、社会的にも喫緊の課題です。京都大学大学院生命科学研究科の Heyun Guo 博士課程学生、佐藤-カールトン綾 同博士研究員、島添将誠 同理学部学生（研究当時、現：総合研究大学院大学 修士課程学生）、Xuan Li 同技術員、Peter Carlton 同准教授らの研究グループは、DSB-1 と呼ばれるタンパク質のリン酸化量<sup>\*1</sup>が調節されることにより、DSB-1 タンパク質の活性が調節されることで正常な生殖細胞が作られることを明らかにしました。DSB-1 タンパク質の活性は、大きすぎても小さすぎても生殖細胞には有害になるため、活性を中庸に維持することが重要であると推測されてきましたが、この分子メカニズムはこれまで不明でした。研究グループは、今回、DSB-1 タンパク質の活性は、リン酸化の有無がスイッチになっており、対立する二つの酵素、PP4 脱リン酸化酵素<sup>\*2</sup>と、ATR リン酸化酵素<sup>\*3</sup>が、バランスをとりながらリン酸化量を制御し、DSB-1 活性を中庸に維持することで、正常な生殖細胞が作られることを明らかにしました。DSB-1 は、減数分裂に必須の染色体構造を作る際に働くと考えられますが、今後は、DSB-1 が DNA に作用するメカニズムを明らかにしていきたいと考えています。

本研究成果は、2022 年 6 月 27 日に米国の学術誌「eLife」にオンライン掲載されました。

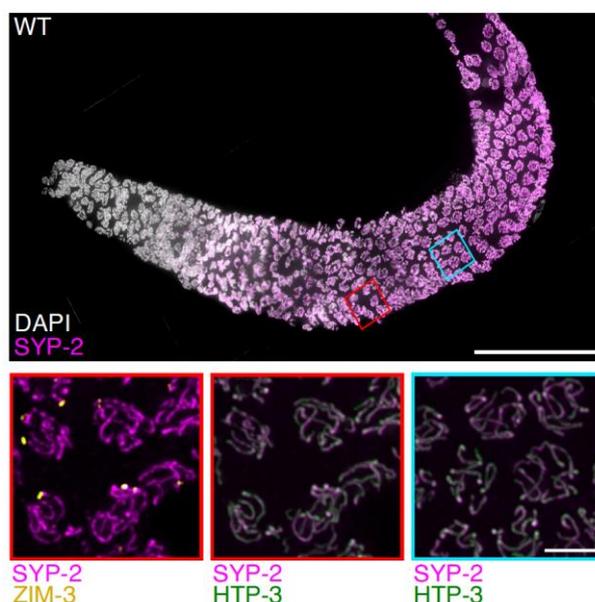


図 線虫生殖腺（卵巢）の卵母細胞核を、減数分裂タンパク質 SYP-1, HTP-3, ZIM-3 の抗体を用いて染色したもの。SYP-1, HTP-3 は、染色体の軸構造を示し、ZIM-3 は、特定の染色体の末端を示す。

（撮影者 Heyun Guo）

## 1. 背景

減数分裂において正常にゲノム DNA を分離するためには、減数分裂前期に、DNA を切断し、母方染色体（親の卵子から受け継いだ染色体）と父方染色体（親の精子から受け継いだ染色体）を繋ぎかえて、キアズマ<sup>※4</sup>という染色体構造を作る必要があります。このため、減数分裂前期の細胞は、DNA を切断する酵素を作って、DNA 二重鎖を切断します。この時、DNA 切断は生殖細胞の形成に必須である一方、DNA を切断しすぎると、DNA に修復しきれない傷が残り、この傷は遺伝子の変異や細胞のガン化の原因になる恐れがあります。このため、多すぎず少なすぎない DNA 切断を作る何らかのメカニズムが存在するのであろうと推測されていましたが、その実体は謎でした。

## 2. 研究手法・成果

今回私たちは、多すぎず少なすぎない、「ちょうどよい塩梅」の DNA 切断を作るためには、DSB-1, PP4, ATR と呼ばれるタンパク質が働いていることを明らかにしました。

私たちはもともと、モデル生物である線虫における変異株から不妊になるものを探索したところ、PP4 フォスファターゼ（脱リン酸化酵素）が減数分裂に重要であることを見つけていました。PP4 が減数分裂に働くメカニズムを理解するため、今回、PP4 脱リン酸化酵素が働きかける相手（基質）を探索したところ、DSB-1 が有力候補として浮かび上がりました。DSB-1 は、もともと生殖細胞が作られる際に、DNA を切断し、減数分裂に必須の染色体構造（キアズマ）を作るために重要なタンパク質として知られていました。そこで、CRISPR-Cas9 ゲノム編集法を用いて DSB-1 の変異株線虫を作製し、DNA 切断の量を計測しました。その結果、DSB-1 のリン酸化量が増えると、DNA 切断が減り、リン酸化量が減ると DNA 切断が増えることがわかりました。DNA の切断量は、切断された DNA 箇所に集合しキアズマを作る過程に働く RAD-51 というタンパク質を染色する手法で検出することができます。これより、DSB-1 タンパク質のリン酸化量が、DSB-1 タンパク質活性の ON /OFF スイッチとなることで活性の強さを調節することがわかりました。

## 3. 波及効果、今後の予定

線虫の DSB-1 は、酵母から哺乳類まで保存されたタンパク質であり、今回線虫をもちいて明らかにした減数分裂のメカニズムは、ヒトの減数分裂まで保存されている可能性があり、将来的にヒトの生殖細胞が産出される過程の理解に貢献する可能性があります。

また、DSB-1 は、生殖細胞が作られる際の DNA 切断に必須のタンパク質ですが、DNA 切断酵素そのものではありません。DNA 切断酵素としては、SPO-11 と呼ばれるタンパク質が知られており、DSB-1 は、切断酵素 SPO-11 を制御することで、DNA 切断量を調節していると考えられますが、その分子メカニズムはまだわかっていません。今後は、DSB-1 が切断酵素 SPO-11 を制御するメカニズムを分子的に明らかにしたいと考えています。

## 4. 研究プロジェクトについて

本研究は、科研費 基盤 B (5H04328)、基盤 C(17K15064)、内藤記念女性研究者研究助成の支援を受けて実施されました。また、カルフォルニア大学バークレー校の Abby F Dernburg 教授と、Howard Hughes Medical Institute との国際共同研究として実施されました。

<用語解説>

※1 リン酸化：タンパク質にリン酸基を付加すること。

※2 PP4 脱リン酸化酵素：タンパク質からリン酸基を取り除く酵素。

※3 ATR リン酸化酵素：タンパク質にリン酸基を付加する酵素。

※4 キアズマ：減数分裂前期において、DNA が切断され、母方から受け継がれた染色体と、父方から受け継がれた染色体の一部が繋ぎ変えられることで交差する染色体の部分。

#### <研究者のコメント>

線虫は、成虫における体内の細胞の約半分を卵母細胞が占めるほど、生殖細胞を沢山つくる生物であり、減数分裂前期のタンパク質の挙動を解析するための、非常に有用なモデル生物です。生殖細胞の前駆体となる細胞は、シャーレなど体外の環境で培養することが比較的難しいため、減数分裂のメカニズムには、まだまだ基本的な原理さえ謎に包まれている点が多く残されています。私たちは、遺伝学的な操作が容易である線虫をツールとして、ヒトまで保存されたタンパク質が働く経路を明らかにし、生物間で共通してみられる、減数分裂の普遍的なメカニズムを理解することを目指しています。(Peter Carlton, 佐藤-カールトン綾)

#### <論文タイトルと著者>

タイトル：**Phosphoregulation of DSB-1 mediates control of meiotic double-strand break activity** (DSB-1 タンパク質のリン酸化制御が減数分裂前期における DNA 二重鎖切断量を調節する)

著者：Heyun Guo, Ericca L Stamper, Aya Sato-Carlton, Masa A Shimazoe, Xuan Li, Liangyu Zhang, Lewis Stevens, KC Jacky Tam, Abby F Dernburg, Peter M Carlton

掲載誌：eLife DOI： <https://doi.org/10.7554/eLife.77956>

#### <この文章に関する問い合わせ先>

Peter CARLTON (ピーター カールトン)

京都大学大学院生命科学研究科・准教授

E-mail： [carlton.petermark.3v@kyoto-u.ac.jp](mailto:carlton.petermark.3v@kyoto-u.ac.jp) Twitter： @pmcarlton

Website： <https://www.carltonlab.org/>