

共同研究者
山本 雅敏 教授 (ショウジョウバエ遺伝資源センター)

ヒト遺伝子とショウジョウバエ遺伝子との機能の類似性
ヒト遺伝子でショウジョウバエの不妊は回復するか？

研究の背景

- ヒトHEL308はDNA巻き戻し活性を有することが知られているが、その役割は不明である。
- ショウジョウバエ *mus301* 変異は、mutagen sensitive phenotype を引き起こす3番染色体上の変異として分離された。
- Mus301はHEL308のオルソログであり、減数分裂組換えと体細胞での2本鎖DNA切断修復に関与する事が知られている。

研究の目的

- 相同組換えによる2本鎖DNA切断修復機構のどのステップにショウジョウバエMus301、ヒトHEL308が関与しているか？
- ヒトHEL308のヒト生殖細胞系列での役割は何か？

研究の概要

- mus301^{Δ4}* はナンセンス変異であり雌不妊 (Fig. 1) と2本鎖DNA切断誘発剤であるブレオマイシンに高感受性を示す (提示なし)。
- Hel308* transgene の発現によって雌不妊は回復するが (Fig. 1BC)、ブレオマイシン耐性は回復しなかった (提示なし)。
- mus301^{Δ4}* 卵母細胞核では、減数分裂組換え欠損によって、Mei-W68lによる2本鎖切断が放置され、染色体のクラスター形成がうまく進行しないため核形態異常が観察される (Fig. 2A)。
- Hel308* transgene の発現は核形態異常を回復させた (Fig. 2C) が、未修復切断の蓄積には影響しなかった (Fig. 2B)。
- これらの結果は HEL308 が相同組換えによる2本鎖切断修復をMus301の代わりに完了できない事を示す。
- HEL308が、ヒトの卵母細胞サイクルにおいてもkaryosphereと呼ばれる染色体クラスターが形成されるが、減数分裂組換えを通してそのクラスター形成過程に関与していることが考えられる。

研究の応用

- ショウジョウバエでの簡便なジーンターゲティング法は未だ開発途上にある。Mus301のようなDNAヘリカーゼは、組換え経路間の選択を制御している可能性があり、ジーンターゲティング高頻度化のために、一種のDNAヘリカーゼの発現によって、相同組換えの上昇と非同相組換えの抑制を同時に行なう系の開発を目指す。

将来展望

- 相同組換えの各ステップでは多くの場合、タンパク質複合体が形成される。例えば、D-loop形成 (Fig. 3A2) には、BRCA2とSpn-A、Spn-B、Spn-DのRad51パラログとの複合体形成が必須である。その後に関与すると考えられるMus301がどのような複合体形成を行なっているかを知るために、まずは相互作用タンパク質の解析を行なう。

- 配列解析からMus301のヘリカーゼドメインの外側が数百残基に渡って天然変成状態にあることが示唆された。ヘリカーゼドメインの外側に他タンパク質との相互作用領域が存在することから、この領域がどのような相手と相互作用するか、その際にどのような特定構造をとるか、そのような相互作用の破綻がどのような表現型を引き起こすか明らかにしたい。

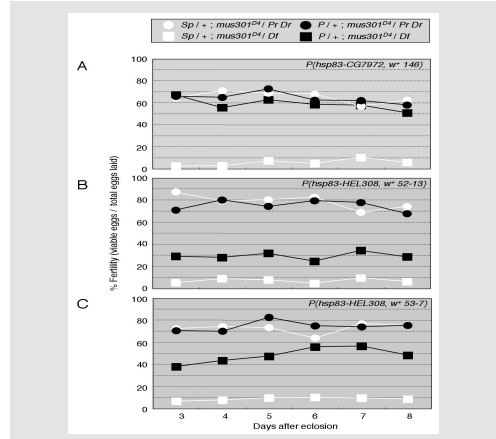


Fig. 1. Rescue of *mus301* female sterility by *HEL308* transgenes.

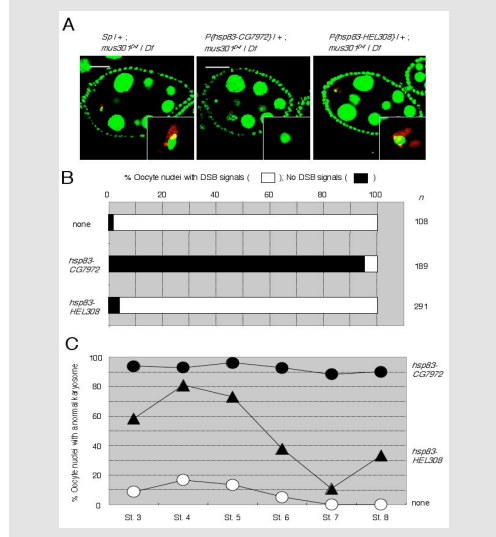


Fig. 2. Effects of the *HEL308* transgene on the accumulation of DSB signals and the karyosome defect in the *mus301^{Δ4}* oocyte nuclei.

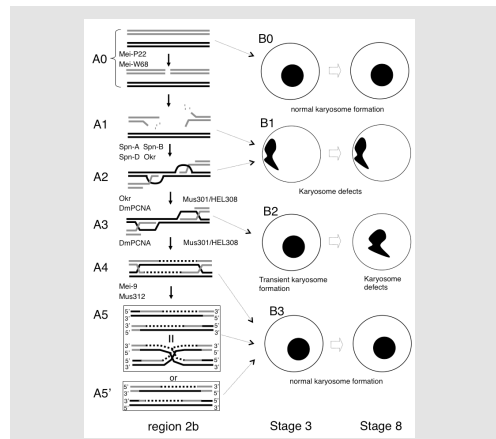


Fig. 3. Meiotic recombination and karyosome formation in *Drosophila*.