

最先端・次世代研究開発支援プログラム  
事後評価書

研究課題名	流産リスク管理に向けた配偶子異数体形成過程の基礎的研究
研究機関・部局・職名	大阪大学・蛋白質研究所・准教授
氏名	篠原 美紀

## 【研究目的】

減数第一分裂期には空間的に離れて存在し物理的接着もない相同染色体同士のキアズマによる物理的接着を利用して分配する。キアズマは相同染色体の間でおこる交叉型組換えによって形成される。減数分裂期交叉型組換えは、お互いに干渉(interference)を示すことで、染色体上での数と空間的配置をコントロールしている。そして、この制御機構こそが減数分裂期での正確な染色体分配を保証する機構である。現在までの研究から、正しくキアズマを形成するための制御には減数分裂期特異的な染色体高次構造体シナプトネマ複合体の構成因子 Zip3 と Msh4/Msh5 複合体の機能が必要であることを明らかにしている。しかしながら、どのようにシナプトネマ複合体因子が組換え部位に連れてこられるのかそこでどのように組換えを制御するのかがわかっていない。本研究ではキアズマの形成機構に関して、①DNA 損傷チェックポイント因子(9-1-1 複合体)の機能を明らかにすること、②NBS 疾患モデル酵母の減数分裂期キアズマ形成過程における欠損を明らかにすること、③ATR/ATM 様キナーゼ Mec1 の減数分裂期におけるリン酸化ターゲットの検索、④ヒストン H3 のメチル化と減数分裂期チェックポイントの機能解明、⑤減数分裂期特異的因子の体細胞分裂期組換え修復における影響解明の各項目について研究を行う。これらの結果から、交叉型組換えの特異性におけるそれぞれの因子の具体的機能と分子メカニズムを明らかにする。これらを総合して減数第一分裂期における染色体分配の正確性に必須である、キアズマの染色体上での数と空間的配置の制御メカニズムの全容を明らかにする。さらに、遺伝的組換えの減数分裂期と体細胞分裂期での反応の違いを生み出す「修飾」のキーファクターを明らかにする。この結果は100年以上も謎とされてきた交叉型組換えの「干渉」機構の解明とその破綻に起因する減数分裂期染色体不分離による疾患や流産の原因遺伝子の特定につながり、その診断と治療を含めた対処法に応用できると考えている。一方で、組換え機構は染色体安定性に寄与することから、減数分裂期との比較によって体細胞分裂期での染色体異常による発がんの分子メカニズムの解明にも寄与できる可能性がある。

【総合評価】	
	特に優れた成果が得られている
○	優れた成果が得られている
	一定の成果が得られている
	十分な成果が得られていない

【所見】	
① 総合所見	
<p>本研究では5つの具体的な研究項目を設定し、それぞれの研究実施年度が示されて、進行した。一般的に研究開始当初はプロジェクトの遂行が遅延しながらも研究が進行しているとの印象であったが、その後は研究が順調に進行したと考えられる。項目①での9-1-1複合体によるシナプトネマ複合体因子リクルートへの流れの解明、②での交叉型組換えが一定となる仕組みの解明は当初計画通りの成果が出ており、この分野への貢献は大きいと思われた。③Mec1の減数分裂期におけるリン酸化ターゲットの検索、④ヒストンH3のメチル化と減数分裂期チェックポイントの機能解明についても成果が得られ、さらに、⑤減数分裂期特異的因子の体細胞分裂期組換え修復における影響についても論文発表に至った。「流産リスク管理に向けた」という研究課題名との乖離が残された課題であることは否めないが、当初計画した研究がほぼ達成されたと言える。また研究開始直後は研究代表者が責任著者としての論文はほとんど出されていないのではないかと印象を受けたが、最終的にいくつかの論文が代表者を責任著者として発表することができたことを高く評価したい。</p>	

② 目的の達成状況	
<p>・所期の目的が  <input checked="" type="checkbox"/> 全て達成された ・ <input type="checkbox"/> 一部達成された ・ <input type="checkbox"/> 達成されなかった)</p>	
<p>本研究課題では5つの具体的な研究項目が設定されており、それぞれの研究実施年度が示されている。</p> <p>① 9-1-1複合体のシナプトネマ複合体因子リクルートに関する役割については、Zip3の精製等によってZip3のリクルートからMsh4/Msh5リクルートまでの流れが明らかにされており、順調に進行した。研究代表者が筆頭著者として論文発表（および投稿中）を行った。</p> <p>② DSB（DNA二重鎖切断）導入効率低下変異酵母を使ったDSB数減少による相同組換えの効果を調べ、40%までの低下であれば非交叉型組換えの減少と干渉機構解除により交叉型組換えが一定に保たれていることを示した。またMsh5の局在シグナルが、DSB40%になるまでは変化しないことから、キアズマホメオスタシスにこの因子が関与していることを示唆した。研究成果は、研究代表者が筆頭著者として論文投稿中である。</p> <p>③ ATR/ATM様キナーゼMec1の減数分裂時リン酸化ターゲットの探索では、減数分裂期組換えに関わるPCSS因子の結晶構造を明らかにし、Rad51との相同性を見出</p>	

し、Nature Communications に発表した（ただし、研究代表者が責任著者ではない）。

④ ヒストンメチル化酵素 Dot1 欠損が DSB 導入効率の低下を引き起こすことからヒストン修飾の DSB 導入での役割を示した。

⑤ 減数分裂機特異的因子の体細胞分裂期組換え修復への影響については、ヒトがん細胞を用いて分裂期におけるゲノム染色体不分離を解析し、他の細胞周期においては染色体安定化に必要なはずの DNA 二重鎖切断修復が染色体分離時に活性化するとむしろゲノム不安定化を一気に加速することを見出し、研究代表者を責任著者として PLoS Genetics に論文を発表した。

すべてのプロジェクトは遅れ気味ながらも進行し、最終的にはほぼ終了したと言える。「流産リスク管理に向けた」というタイトルとの乖離のあることは否めない。いくつかの課題が海外や国内の共同研究者任せという姿勢に問題が指摘されていた。また、研究室での研究代表者の独立性についても疑問が指摘されていた。しかし、課題後半では研究代表者を責任著者として論文が発表されるなど、適切な対応がなされ、成果が得られたことを評価したい。

### ③ 研究の成果

・これまでの研究成果により判明した事実や開発した技術等に先進性・優位性が  
( ある ・ ない)

・ブレークスルーと呼べるような特筆すべき研究成果が  
( 創出された ・ 創出されなかった)

・当初の目的の他に得られた成果が ( ある ・ ない)

酵母を主な研究対象にしているので、動物細胞とは異なったアプローチが可能であり、その研究手段の蓄積において、優位性があると考えられる。①で示された 9-1-1 複合体によるシナプトネマ複合体因子リクルートへの流れは、明確に示されており、9-1-1 複合体の役割をはっきり示した点で先進性・優位性がある。②では DSB 減少と非交又型組換えの減少と干渉機構解除の関係から交叉型組換えが一定に保たれることを示し、更に Msh5 の局在シグナルとの関係も示すことにより、研究目的であるキアズマ数制御機構の解明に大きな一歩を進めている。

いくつかの興味を引く新しい知見が報告されているが、ブレークスルーと呼べるような特筆すべき研究成果は創出されていない。

当初の目的の他に特記すべき研究成果として、Mec1 キナーゼの活性を阻害する「修飾因子」の候補が構造上スカフォールド機能を有するという発見がある。今後その機能を利用して新規の減数分裂期特異的蛋白質のスクリーニングへの道が拓かれるかもしれない。

⑤においてヒトがん細胞を用いて分裂期におけるゲノム染色体不分離を解析し、成果を発表した。この知見は抗がん剤のターゲットとしての新たな可能性が考えられる成果である。

**④ 研究成果の効果**

・研究成果は、関連する研究分野への波及効果が  
( 見込まれる ・ 見込まれない )

・社会的・経済的な課題の解決への波及効果が  
( 見込まれる ・ 見込まれない )

いくつかの興味深い発見が報告されており、関連する研究分野の進展に寄与すると考えられる。減数分裂での交叉型組換えにおける DSB の役割と DNA 損傷クランプによる必要コンポーネントの呼び込みについての理解を大きく進め、この分野の進展に寄与することが予想される。

ヒトでの減数分裂時に起こる染色体異常と流産の発生機構への理解を深めることについては、酵母での実験が主体であり、研究課題名との乖離が懸念された。一方で、ヒトがん細胞を用いて分裂期におけるゲノム染色体不分離を解析した成果は、抗がん剤のターゲットとしての新たな可能性が考えられる、社会的・経済的課題解決への可能性をうかがわせる成果と言える。

**⑤ 研究実施マネジメントの状況**

・適切なマネジメントが ( 行われた ・ 行われなかった )

目的達成に向けて5つの具体的目標を立てて計画されており、研究計画は適切であると思われた。研究員と学生をオーガナイズし、綿密にディスカッションを行うことにより、代表者が全体を把握し、またメンバー全体での情報交換もできる研究実施体制ができており、適切なマネジメントが行われた。

研究代表者の研究室における独立性が懸念されたが、課題後半期には研究代表者が責任著者としての論文がいくつか発表された点は評価する。

女子中学生、高校生を対象にアウトリーチ活動を積極的に行っていることは、高く評価される。今後も同様の活動の継続を期待する。