



Tokyo Tech

2020年5月28日

報道機関各位

東京工業大学

相同組換えを活性化するメカニズムを解明

ーゲノム編集の効率化への貢献にも期待ー

【要点】

- 相同組換えタンパク質である Dmc1 は単独では効率よく機能しない
- Hop2-Mnd1複合体はDmc1のDNA鎖交換の開始反応を特異的に促進
- Swi5-Sfr1複合体はDmc1の1本鎖DNAへの結合促進と共にDNA鎖交換を伸長
- 二種類の活性化タンパク質の相乗的機能で Dmc1 による DNA 鎖交換反応促進

【概要】

東京工業大学 科学技術創成研究院 細胞制御工学研究センターの坪内英生助教、岩崎博史教授らの研究グループは**遺伝情報**（用語1）の安定化および多様化の根幹をなす**相同組換え**（用語2）を活性化する二種類の活性化因子の役割を**試験管内の再構成**（用語3）により解明することに成功した。

坪内助教らは相同組換えタンパク質である Dmc1 が生体内で機能するために必要な二種類の補助因子 Swi5-Sfr1 と Hop2-Mnd1 に着目し、これらのタンパク質を大腸菌で発現・精製し、Dmc1 による DNA 鎖交換反応を試験管内で再構成した。その結果、Swi5-Sfr1 と Hop2-Mnd1 は全く異なる機構で Dmc1 を活性化しており、この二つの補助因子が段階的に互いを補う様に Dmc1 の DNA 鎖交換反応を促進することを明らかにした。

相同組換えは生物学的に極めて普遍性の高い重要な機構だが、いわゆる**ゲノム編集技術**（用語4）が生体内の相同組換え機構を巧みに利用することによって実現されていることから、相同組換えを効率化するメカニズムを解明することは医学的にも大変重要と考えられる。

本研究成果は、2020年5月15日付の「*Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*」の電子版に掲載された。

●背景

DNA鎖が放射線などにより損傷を受けた際、相同組換えを用いることで相同なDNA分子を参照して損傷個所を復元することができる。つまり相同組換えは遺伝情報の安定的な維持に貢献している。一方で**減数分裂期**（用語5）においては減数第一分裂前期において父方と母方の遺伝情報が相同組換えにより活発に交換され、生物の遺伝的多様性の増大に貢献することが知られている。

相同組換えの根幹をなす相同性の検索とDNA鎖交換反応は、大腸菌の相同組換えタンパク質である**RecA**および**RecA**ファミリーに属するタンパク質（用語6）によって触媒される。真核生物の減数分裂期においては減数分裂期特異的に発現する**RecA**ファミリータンパク質である**Dmc1**が中心的役割を果たすことが知られている。

一方、生体内で**Dmc1**が機能するためにはいくつもの補助因子が必要であり、これらの因子が欠損すると**Dmc1**が欠損したのと同等の相同組換え異常が減数分裂期において引き起こされる。しかしこれらの因子がどのように**Dmc1**を補助するのか、その詳細は不明だった。

●研究成果

Dmc1が生体内で機能するために必要な二種類の補助因子**Swi5-Sfr1**と**Hop2-Mnd1**に着目し、これらのタンパク質を大腸菌で発現・精製し、**Dmc1**によるDNA鎖交換反応を試験管内で再構成した。その結果、**Swi5-Sfr1**と**Hop2-Mnd1**は全く異なる機構で**Dmc1**を活性化しており、この二つの補助因子が段階的に互いを補う様に**Dmc1**のDNA鎖交換反応を促進することが明らかとなった（図）。

Dmc1は切断を受けたDNAの末端に取り付き、その部分と相同性を持つDNA分子を探し出し傷害部位のDNAと相同DNAとの間でDNA鎖を交換する。その際**Dmc1**はDNA切断末端に形成された一本鎖DNAに螺旋状に結合し、その一本鎖DNAと相同性のある二本鎖DNAを探し出す。この段階で**Swi5-Sfr1**は**Dmc1**

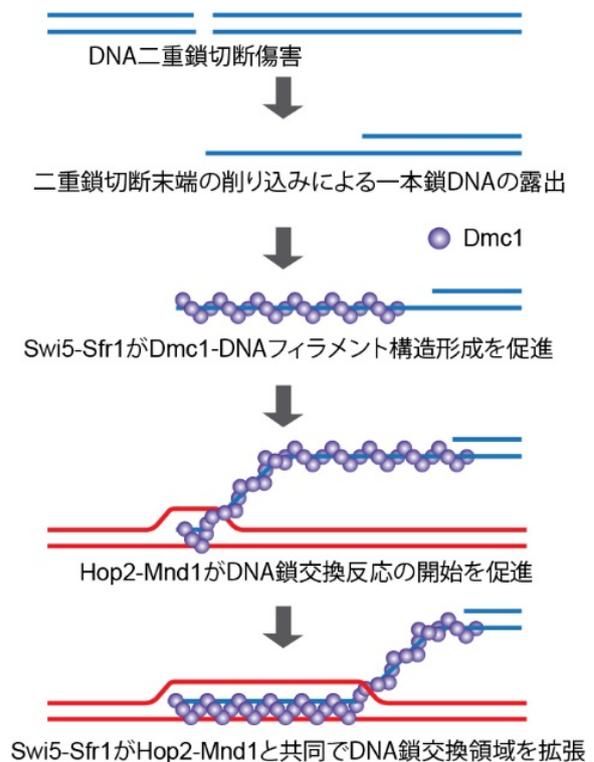


図 減数分裂期特異的な相同組換えタンパク質である**Dmc1**のDNA鎖交換反応が2種類の補助因子で活性化される仕組み

が一本鎖 DNA に効率よく結合し、螺旋構造を維持するのを手助けする。一方で Hop2-Mnd1 は Dmc1 が取り付いた一本鎖 DNA を相同な二本鎖 DNA に潜り込ませる過程を促進する。一度一本鎖 DNA が二本鎖 DNA に潜り込むと Swi5-Sfr1 は Hop2-Mnd1 と協働して DNA 鎖交換領域を拡張する。

●今後の展開

相同組換えは普遍的な生命現象であり、その活性化メカニズムも多岐にわたる。本研究で明らかになった減数分裂期組換え機構の活性化に関してもその分子機構の詳細はまだまだ不明な点が多い。相同組換えタンパク質と活性化因子の協働性の詳細を分子レベルで明らかにしていきたい。

また、近年 **CRISPR/Cas9 技術** (用語 7) を使ったゲノム編集が盛んに行われているが、正確なゲノム編集は結局のところ部位特異的な DNA 二重鎖切断が誘発する細胞内の相同組換えに依存している。相同組換え活性化のメカニズムを解明することで、ゲノム編集技術の向上に貢献することが期待される。

【用語説明】

- (1) **遺伝情報** : 生命の遺伝情報は DNA の塩基配列として記述されている。よって DNA の塩基配列を一定に保つことが生命機能を正常に保つ上で重要である。
- (2) **相同組換え** : 二つの DNA 分子が相同性を有する際、その部分で分子の乗り換え (すなわち組換え) が起こり新しい分子が生じる現象を相同組換えと呼ぶ。相同組換えは DNA に二重鎖切断を導入することで誘導できる。
- (3) **試験管内の再構成** : 生体内で起こっている現象を精製した材料のみを使って試験管内で再現することで、その現象の詳細を分子レベルで理解するアプローチ
- (4) **ゲノム編集技術** : 生命の遺伝情報の総体であるゲノムに意のままに変更を加えることを可能にする技術。
- (5) **減数分裂期** : 遺伝情報を次世代に伝えることに特化した細胞である配偶子 (ヒトでは精子と卵) を生み出す為の特別な細胞周期。一回の DNA の複製後二回連続して細胞分裂の起こる点が特徴である。特に減数第一分裂では相同染色体の分配が起こる点が、姉妹染色分配の起こる体細胞分裂とは大きく異なる。減数第一分裂前期では、相同組換えが高頻度で誘発され父方と母方の遺伝情報が活発に交換される。一方で、減数第二分裂は体細胞分裂同様に、姉妹染色分体が分配される。
- (6) **RecA および RecA ファミリーに属するタンパク質** : 大腸菌 RecA タンパク質は DNA が二重鎖切断を受けた際その末端に形成される一本鎖 DNA

に螺旋状に結合し、その部分と相同性のある二本鎖 DNA 分子を見つけ出し、一本鎖 DNA を二本鎖 DNA に潜り込ませる活性 (DNA 鎖交換活性) を有する。多くの真核生物では二種類の RecA ファミリータンパク質である Rad51 と Dmc1 を持つ。Rad51 が体細胞分裂期と減数分裂期の両方で機能するのに対して Dmc1 は減数分裂期特異的に発現し機能することが知られている

- (7) **CRISPR/Cas9 技術**： Cas9 はプログラム可能なエンドヌクレアーゼである。Cas9 は RNA (ガイド RNA) と複合体を形成し、RNA と相補的な DNA 配列を認識してその部位を切断する。ガイド RNA の塩基配列をデザインすることでほぼ任意の場所に DNA 切断を導入し、相同組換えを誘導することが出来るようになった。

【論文情報】

掲載誌: *Proceedings of the National Academy of Sciences of United States of America* (米国科学アカデミー紀要)

論文タイトル: Two auxiliary factors promote Dmc1-driven DNA strand exchange via stepwise mechanisms

著者: Hideo Tsubouchi*, Bilge Argunhan, Kentaro Ito, Masayuki Takahashi and Hiroshi Iwasaki* (*co-corresponding authors)

DOI: 10.1073/pnas.1917419117

【問い合わせ先】

東京工業大学 科学技術創成研究院 細胞制御工学研究センター
助教 坪内英生

Email: htsubouchi@bio.titech.ac.jp

TEL: 045-924-5149

【取材申し込み先】

東京工業大学 総務部 広報・社会連携課

Email: media@jim.titech.ac.jp

TEL: 03-5734-2975