

減数分裂過程の制御機構の分子解明

(課題番号 10680646)

平成10年度～平成12年度 科学研究費補助金(基盤研究(C)(2))
研究成果報告書

平成13年3月

研究代表者 東谷篤志
(東北大学遺伝生態研究センター)

東北大学図書



00021006056

附属図書館

はしがき

生物が多様な環境に適応し進化してきた過程は、それぞれの生物が独自の遺伝的多様性を獲得してきた結果であり、また、その遺伝的多様性の獲得機構は、生殖過程にもっとも顕著に見られる。有性生殖を行う生物は、その生殖細胞形成時に減数分裂を行い、配偶子の接合により遺伝的多様性を高めている。また減数分裂の過程では、倍加した姉妹染色体間での遺伝子組換えが高頻度に生じ、子孫の遺伝的多様性はさらに高まる。一方で、生殖細胞形成の過程は、体細胞組織の形成過程に比べ、様々な環境ストレスによって、著しく影響を受け、生殖不全となることが多くの生物種で知られている。そこで、本研究では、遺伝的多様性の獲得メカニズムと環境ストレスの生殖細胞形成に及ぼす影響を理解することを究極の目標として、我々は、線虫(*Caenorhabditis elegans*)やオオムギなどを材料に用い、減数分裂過程での遺伝子組換え機構とその制御系、ならびに生殖細胞形成に対する高温ストレスならびに放射線、紫外線の影響について研究を行った。

相同的遺伝子組換えの要の反応である DNA strand exchange に関わる大腸菌 *recA* 様遺伝子は、酵母、植物ならびにヒトにおいては、2種類の分子種 *RAD51* と *DMC1/LIM15* が、それぞれ存在することが知られてきた。しかしながら線虫においては、1種類しか見出せず、私達はこの遺伝子を *Ce-rdh-1* (*C.elegans rad51, dmc1/lim15 homolog 1*)と命名した。*Ce-rdh-1* 遺伝子の発現を RT-PCR 法ならびに *in situ hybridization* 法で調べたところ、その発現は成虫になるにつれて上昇すること、ならびに生殖腺内の減数分裂細胞で強く発現することが明らかになった(Takanami et al., 2000)。また、RNA interference 法で遺伝子発現を抑制した結果、正常な減数分裂ディアキネシス期への移行が妨げられ、染色体がランダムに絡まった状態となり、減数分裂が完了できないこと(Takanami et al., 1998)、ならびに放射線に高感受性となることを明らかにした(Takanami et al., 2000)。また、線虫の減数分裂パキテン期の核は、放射線に大変強い抵抗性を示し、その抵抗性は相同染色体間遺伝子組換えに関わる *Ce-rdh-1* などの酵素群の高い活性に起因することを明らかにした(Takanami et al., 2000)。従って、*Ce-rdh-1* 遺伝子は、減数分裂過程の進行に必須であり、かつ放射線などによる DNA 損傷の修復にも重要な働きをする、*RAD51* と *DMC1/LIM15* の両機能を兼ね備えた線虫遺伝子であることが示唆された。

次に、ヒトの遺伝性疾患の原因遺伝子 *ATM* (*ataxia telangiectasia mutated gene*) と相同的な線虫遺伝子 *Ce-atl-1* (*C. elegans ATM/ATR like 1*)が、体細胞分裂ならびに減数分裂時の染色体の維持・安定性に重要な役割をするチェッ

クポイント制御因子であることを明らかにした(Aoki et al., 2000)。

さらに、ヒトや酵母においては、ATM ファミリーのシグナル伝達の下流に位置する一つの遺伝子として、蛋白質リン酸化酵素をコードする *CHK2* の存在が知られている。そこで、線虫においてヒト *CHK2* の相対的遺伝子(*Ce-chk-2*) を単離し、その機能を解析したところ、*Ce-chk-2* は、*Ce-atl-1* と異なり線虫においては細胞周期のチェックポイント制御には関与せず、減数分裂期の相同染色体間の対合の制御に必須な遺伝子であり、対合が異常になるためその後の相同染色体間での遺伝子組換え、ならびにキアズマ形成が完全に阻害されることを見出した(Higashitani et al., 2000)。

次に、オオムギの生殖成長過程における穎花の分化初期は、高温に最も感受性が高く、5日間の高温処理(30℃昼温/25℃夜温)を行うことによって、その後の花粉形成が完全に進行しなくなる生殖障害が誘導されることを見出した(Sakata et al., 2000)。そこで、本系を用い、コントロールと比較することで高温障害時に発現誘導される遺伝子群について、SAGE(serial analysis of gene expression)法により解析を現在行っている。その結果、穎花の分化初期の高温処理によって花粉形成が完全に阻害された際に、遺伝子発現が特異的に誘導される数種類の遺伝子の tag 配列を明らかにした(Abiko et al., unpublished)。

研究組織

研究代表者：東谷 篤志 (東北大学遺伝生態研究センター 助教授)

(研究協力者：高橋秀幸、青木秀年、高浪タカ子、阪田忠、森亮之、
安彦真文、笹川洋平)

研究経費

平成 10 年度	1,600 千円
平成 11 年度	900 千円
平成 12 年度	700 千円
計	3,200 千円

研究発表

(1) 学会誌等

Higashitani, A., H. Aoki, A. Mori, Y. Sasagawa, T. Takanami and H. Takahashi
Caenorhabditis elegans Chk2-like gene is essential for meiosis but dispensable for DNA repair.

FEBS Letters 485: 35-39 (2000)

Takanami, T., A. Mori, H. Takahashi and A. Higashitani
Hyper-resistance of meiotic cells to radiation due to a strong expression of a single *recA*-like gene in *Caenorhabditis elegans*.

Nucleic Acids Res. 28: 4232-4236 (2000)

Aoki, H., S. Sato, T. Takanami, T. Ishihara, I. Katsura, H. Takahashi and A. Higashitani

Characterization of *Ce-atl-1*, an *ATM*-like gene from *Caenorhabditis elegans*.

Molecular General Genet. 264: 119-126 (2000).

Sakata, T., H. Takahashi, I. Nishiyama and A. Higashitani

Effects of high temperature on the development of pollen mother cells and microspores in barley *Hordeum vulgare* L.

J. Plant Res. 113: 395-402 (2000)

Endo, M., T. Kokubun, Y. Takahata, A. Higashitani, S. Tabata and M. Watanabe
Analysis of expressed sequence tags of flower buds in *Lotus japonicus*.

DNA Res. 7: 213-216 (2000)

Takanami, T., S. Sato, T. Ishihara, I. Katsura, H. Takahashi and A. Higashitani

Characterization of a *Caenorhabditis elegans* *recA*-like gene *Ce-rdh-1* involved in meiotic recombination.

DNA Res. 5: 373-377 (1998)

(2) 口答発表

東谷篤志、高浪タカ子、青木秀年、森 亮之、笹川洋平、高橋秀幸：線虫を用いた減数分裂過程の分子解明。第 23 回 日本分子生物学会年会ワークショップ (2000 年 12 月 13-16 日、神戸)

高浪タカ子、高橋秀幸、東谷篤志：減数分裂細胞における放射線高抵抗性と相対的遺伝子組換え酵素発現。第 23 回 日本分子生物学会年会 (2000 年 12 月 13-16 日、神戸)

東谷篤志、高浪タカ子、青木秀年、森 亮之、笹川洋平、高橋秀幸：減数分裂期の相同染色体間遺伝子組換えとその制御機構—モデル生物 *C. elegans* を用いた解析—。第 14 回 ワークショップ「遺伝子組換えとその制御」(2000 年 12 月 11-12 日、神戸)

Takanami, T., Mori, A., Takahashi, H., Higashitani, A.: Hyper-resistance of meiotic cells to radiation, but not UV, due to a strong expression of a single *recA*-like gene in *Caenorhabditis elegans*. COE-IGE International Symposium (2000 年 12 月 4-6 日、仙台)

Aoki, H., Takanami, T., Takahashi, H., Higashitani, A.: Characterization of *Ce-atl-1*, an *ATM*-like gene from *Caenorhabditis elegans*. COE-IGE International Symposium (2000 年 12 月 4-6 日、仙台)

Higashitani, A., Aoki, H., Mori, A., Sasagawa, Y., Takanami, T., Takahashi, H.: *C. elegans* *Chk2*-like gene is essential for meiosis but dispensable for DNA repair. 第 3 回 ATM/PKD 研究会 (2000 年 11 月 22 日、千葉)

Higashitani, A., Sakata, T., Abiko, M., Takahashi, H.: Effects of high temperature on the development of pollen mother cells and microspores in barley *Hordeum vulgare* L. Korean · Japan Joint Symposium of Molecular Plant Development (2000 年 11 月 17 日、Korea)

阪田 忠、安彦真文、東谷篤志、高橋秀幸：宇宙環境下における穀物生産実現に向けての研究—植物生殖成長に対する環境ストレスの影響の分子生物学的研究—。日本宇宙生物科学会第 14 回大会 (2000 年 10 月 19-20 日、福島)

東谷篤志、高浪タカ子、青木秀年、森 亮之、笹川洋平、高橋秀幸：線虫を用いた有性生殖サイクルの分子機構と放射線傷害に対する防御機構。日本宇宙生物科学会第14回大会（2000年10月19-20日、福島）

Aoki, H., Higashitani, A.: Characterization of *Ce-atl-1*, an ATM-like gene from *Caenorhabditis elegans*. 第1回 文部省特定領域研究「がん」6 領域 若手研究者ワークショップ（2000年8月31日-9月3日、掛川）

Mori, A., Takanami, T., Takahashi, H., Higashitani, A.: Studies on protein kinases involved in gametogenesis. 第2回 *C. elegans* 日本集会（2000年8月1-3日、東京）

Takanami, T., Mori, A., Takahashi, H., Higashitani, A.: Hyper-resistance of meiotic cells to radiation due to a strong expression of a single *recA*-like gene in *Caenorhabditis elegans*. 第2回 *C. elegans* 日本集会（2000年8月1-3日、東京）

東谷篤志：チェックポイント制御機構による発がん防御の分子解明（モデル生物・線虫を用いた基礎的研究）発がん発がん防御の基礎的研究（2000年7月27-29日、札幌）

東谷篤志、阪田 忠、高橋秀幸：オオムギを用いた生殖生長過程における遺伝子発現の全体像の解析の試み。日本植物生理学会2000年度年会（2000年3月27-29日、名古屋）

高浪タカ子、高橋秀幸、東谷篤志：減数分裂過程に必須の *C. elegans recA* 様遺伝子 *Ce-rdh-1* の発現解析。第22回 日本分子生物学会年会（1999年12月7-10日、福岡）

青木秀年、佐藤修正、石原 健、桂 勲、高橋秀幸、東谷篤志：線虫におけるヒト ATM 様遺伝子 *Ce-atl-1* の解析。第22回 日本分子生物学会年会（1999年12月7-10日、福岡）

Higashitani, A. : Characterization of an ATM-like gene *Ce-atl-1* in *Caenorhabditis elegans*. 第2回 ATM/PKD 研究会（1999年10月5日、東京）

阪田 忠、東谷篤志、西山岩男、高橋秀幸：地球型生物における有性生殖サイクルの分子機構と惑星環境：オオムギを用いた有性生殖サイクルと環境ストレスの解明の試み。日本宇宙生物科学会第13回大会（1999年9月17-18日、東京）

阪田 忠、高橋秀幸、西山岩男、東谷篤志：オオムギを用いた高温不稔系の確立と生殖細胞における分子マーカーの作成。日本植物生理学会年会1999年度年会（1999年3月28-30日、仙台）

東谷篤志：減数分裂期の相同染色体対合と生殖生長の分子マーカー。遺伝生態研究センター・ワークショップ 生物の生殖と遺伝的多様性（1998年12月4-5日、仙台）

高浪タカ子、高橋秀幸、佐藤修正、石原 健、桂 勲、東谷篤志：*C. elegans* の *recA* 様遺伝子 *Ce-rdh-1* の機能解析。第21回 日本分子生物学会年会（1998年12月16-19日、横浜）

東谷篤志、青木秀年、高浪タカ子、高橋秀幸、佐藤修正、石原 健：減数分裂過程の制御機構の解明。第1回 Cエレガンス日本集会（1998年7月23-25日、金沢）

本報告書収録の学術雑誌等発表論文は本ファイルに登録していません。なお、このうち東北大学在籍の研究者の論文で、かつ、出版社等から著作権の許諾が得られた論文は、個別に **TOUR** に登録しております。