

（様式 1-1）

提出日：2024 年 5 月 16 日

2023 年度 大阪大学蛋白質研究所 拠点事業

研究成果報告書

（１）事業名（下記より該当事業名を選択し、ほかは削除して下さい。）

共同研究員

（２）研究代表者

氏名：東出 望花

所属機関名・部局名・職名：福井大学学術研究院工学系部門 学振 RPD

（３）研究課題名（申請時に記載したものと同一課題名を記入して下さい。）

染色体構造依存的な dilncRNA 代謝による修復経路選択機構の解明

（４）蛋白質研究所受入担当教員

教員名：篠原 彰

（研究室名：ゲノム染色体機能研究室）

（５）研究成果の概要（公開）

*背景および目的、方法と結果、について、公開して差し支えない範囲で 1 ページ以内で記載。

細胞にとって最も重篤なダメージである DNA 二重鎖切断 (DSB) が染色体上で形成されると、主に相同組換え (HR) と非同源末端結合 (NHEJ) の 2 種類の経路で修復される。その修復経路の選択は、ヘテロクロマチンなど染色体の高次構造状態に影響されることが報告されている (Caron P et al, 2021; Schep R et al, 2021)。近年、DSB 部位では mRNA の転写が抑制される一方で、切断点から両方向に Damage-induced lncRNA (dilncRNA) の転写が起こることが明らかになってきた (Li L et al, 2016; Ohle C et al, 2016; Michelini F et al, 2017)。この dilncRNA の転写、dilncRNA のメチル化による DNA/RNA ハイブリッド形成とその分解がといった、DSB 形成部位周辺で起こる一過的な dilncRNA の代謝が DSB 修復経路選択に関係することが分かってきた。dilncRNA は何千塩基にも渡って転写される lncRNA であり、DSB 周辺のヒストン修飾や染色体の高次構造などによって、転写から分解までに至る dilncRNA の代謝反応の挙動が変わると予想される。しかし、染色体構造の違いによる dilncRNA の代謝反応の変化とそれによる DSB 修復経路選択への影響は明らかになっていない。

そこで本研究では、染色体構造のダイナミックな変化を同調的にモニタリング出来る、出芽酵母 SK1 株の減数分裂期を利用して、染色体構造状態ごとの修復経路選択の変化と dilncRNA 代謝の関係性を調べる。研究代表者は、減数分裂期特異的なプログラム DSB が起こらない spo11-Y135F 株において、外的な DSB を CRISPR/Cas9 によって導入できる株を作製した。この株を用いて、Cas9 による DSB 形成部位周辺の DSB 修復経路因子、ヒストン凝集状態、dilncRNA 代謝因子の蓄積を比較する。本年度は、染色体凝集状態の異なる 2 種類の減数分裂進行停止株を用いて、DSB 形成部位周辺の HR 因子 Rad51 の蓄積をクロマチン免疫沈降法 (ChIP 法) により解析した。