

(様式 1-1)

提出日：2026 年 5 月 11 日

2025 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、ほかは削除してください。）

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：福井大学工学部 雇用 RPD（日本学術振興会特別研究員 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ください。）

染色体構造依存的な dilncRNA 代謝による修復経路選択の解明

(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

*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記載。

本研究テーマは、「DSB 形成地点から両方向に転写される dilncRNA の挙動と染色体構造の関係が修復経路を決定づける鍵になるのではないか」という仮説を検証するために、減数分裂期という染色体高次構造の変化が同調的に起こる環境を利用するものである。本研究では、減数分裂期の染色体構造が異なる時期に進行が停止する株において、CRISPR/Cas9 によって DSB 導入を行い、そこから転写される dilncRNA の代謝を定量的に調べることで、染色体構造と DSB 修復経路選択の関係性を、dilncRNA を介して理解しようとした。適切なタイミングで DSB 導入を行うための様々な条件検討を行い、プラスミドを保持する方法ではなく出芽酵母のゲノム中に直接 CRISPR/Cas9 とガイド RNA の配列を挿入する方法に切り替え、野生株での減数分裂期進行が遅延しないことを確認した。しかし、この株を減数分裂期中に DSB が起こらない *spo11-Y135F* 変異の Background に入れると、同調性が悪く遅延するようになった。その原因として、この株に入った目的外の変異の影響が考えられたため、本共同研究先であるゲノム染色体機能研究室から新しく作り直した *spo11-Y135F* 変異株を提供していただき、目的の変異を掛け合わせて本実験に使う変異シリーズを作製した。まず、DSB 形成率が最適化されたガイド配列をゲノムに挿入した *spo11-Y135F Cas9-guideRNA* 株において減数分裂期同調を確認したところ、減数分裂期の同僚性の悪さと進行の遅延は解消された。この株に減数分裂期の進行が停止する各変異を導入した株を作製し、DSB 形成後の dilncRNA の転写量を調べたところ、最も染色体高次構造が緩いと予測される *cdc53-mn* 変異株において DSB 導入後の切断点近傍の転写量が増加しており、dilncRNA の転写量は染色体構造の密な環境に比べ構造の緩い環境下で上昇することが予想された。よって、dilncRNA の転写そのものと DSB 修復経路選択の関係性が染色体構造と修復経路選択との関係を理解する上で重要であると考えられた。