

細胞の動的・高次構造体
2021年度採択研究代表者

2022年度
年次報告書

今井 裕紀子

情報・システム研究機構 国立遺伝学研究所／科学技術振興機構
特任研究員／さきがけ研究者

ゼブラフィッシュから解く組換え開始の動的制御

研究成果の概要

減数分裂期の相同組換えは、正常な染色体分配に必須であるとともに、遺伝的多様性を生み出す重要なメカニズムである。この組換えは、DNA の二重鎖切断(Double Strand Break: DSB)が、DSB マシナリーとよばれる一群のタンパク質によって、ゲノム上の特定の領域に誘導されることによって始まる。DSB が起こりやすい領域は生物種によって異なるが、そのメカニズムは限られたモデル生物でしか明らかになっていない。本研究の目的は、ヒトと類似した特徴が見られるゼブラフィッシュの精子分化培養系を用いたライブイメージング法を確立し、減数分裂期の DSB マシナリーの局在ダイナミクスとそのメカニズムから、組換え開始の動的制御を明らかにすることである。

2022年度は、① DSB マシナリーの局在メカニズムを解析するための免疫沈降と、②ライブイメージングに用いるトランスジェニック変異体ゼブラフィッシュの作製とイメージング条件の検討を行った。①では、前年度に得られた抗体を用いて、野生型ゼブラフィッシュ精巣から DSB マシナリー因子の免疫沈降を行った。現在、質量分析による解析中である。②では、ライブイメージングを行うために、精子分化培養系の最適化を行い、ガラスボトムディッシュにおける培養法を確立した。また、前年度に遺伝子導入プロトコルの改良を行った結果、蛍光タンパク質でラベルした DSB マシナリー因子とテロメア局在因子を、減数分裂特異的プロモーター、または Tet/On システム依存的に発現するトランスジェニック変異体の F₁ 世代を得ることができた。このうち、減数分裂特異的プロモーターによる発現コンストラクトでは、蛍光タンパク質の発現を顕微鏡下で確認できた。特に、蛍光タンパク質でラベルされたテロメア局在因子では、ゼブラフィッシュの減数分裂に特徴的なテロメアの集合が観察できたことから、減数分裂期のステージングに用いるため、DSB マシナリー因子のトランスジェニック変異体との交配を進めた。