

# 正常な精子・卵子の形成メカニズムを解明

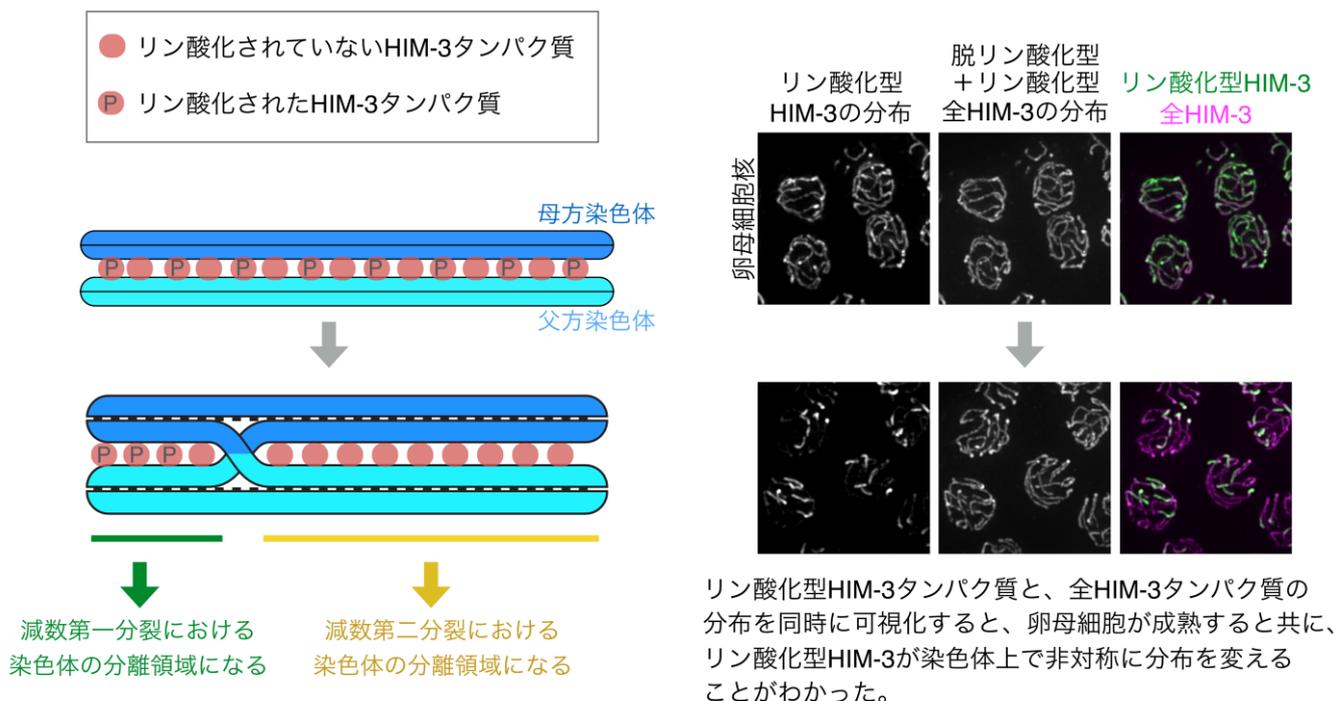
## —染色体の分離に重要なタンパク質の発見—

### 概要

京都大学大学院生命科学研究科 ピーター・カールトン 准教授（兼：京都大学物質-細胞統合システム拠点（iCeMS：アイセムス）連携主任研究者）らのグループは、モデル生物線虫を用いて、人間まで保存されたHORMAドメインタンパク質（HIM-3）のリン酸化が、正常な精子と卵子の形成を促すことを示しました。

出産の高齢化が進む現代社会では、適齢期夫婦の約15%が不妊問題を抱えると言われており、その多くのケースで原因となる不妊因子は特定されていません。このため、正常な精子、卵子を生み出すメカニズムの理解は、重要な研究課題です。精子、卵子を生み出す細胞分裂は、減数分裂と呼ばれる特殊な分裂で、その分子メカニズムには多くの謎が残されています。減数分裂では、母方と父方から受けついだ染色体を、2回連続して切り離すことにより、細胞に含まれるDNAの数を半分にします。二段階で染色体を分離する際、細胞は、染色体をどの部分で切り離すかというのを前もって決めておき、秩序立って分離しなければいけません。このとき、細胞が、どのように染色体の分離面を決めているのか？という謎は、これまで未解決のままでした。本研究は、HIM-3と呼ばれる、人間まで保存されたタンパク質が、減数分裂前期の初めにリン酸化を受け、そして、分裂の直前に、染色体の特定の領域で脱リン酸化されることが、染色体の分離面の確立に貢献していることを発見しました。HIM-3は、精子または卵子になる前駆細胞にのみ存在し、染色体を束ねる軸をつくるタンパク質群の一員です。本研究より、減数分裂では、染色体の軸タンパク質を制御することが、正しい染色体の分離、そして正常な精子と卵子の形成を促すことがわかりました。

本研究成果は、2020年11月11日に国際学術誌「PLoS Genetics」にオンライン掲載されました。



## 1. 背景

細胞が正常に機能するためには、生物ごとに特定の数の染色体が各細胞に含まれていることが重要です。例えば人間の場合、母方から23本、父方から23本、受け継いで、合計46本の染色体を持つことで、細胞は正常に機能します。この時、染色体が多すぎても少なすぎても細胞に不具合がおこるため、減数分裂において、正しい数の染色体をもった精子と卵子を作ることが、受精卵の形成にとって重要です。減数分裂において染色体を均等に分離することに失敗し、精子と卵子が、多すぎるもしくは少なすぎる数の染色体を持ってしまうと、多くの場合、不妊や流産の原因となります。しかしながら、減数分裂期の細胞を試験管内で培養することは比較的難しく、また、減数分裂は一般的な体細胞に比べて工程が多いため、染色体を正しく分離するメカニズムについては謎が多く残されていました。

## 2. 研究手法・成果

本研究グループではこれまでに、生殖細胞が非常に豊富な線虫を用いて、卵母細胞を大量に回収し、質量分析を用いて、減数分裂期に働くタンパク質と、そのリン酸化修飾を新規に同定していました。今回は、そのうち、人間まで保存されている線虫HIM-3と呼ばれるタンパク質(ヒトではHORMAD1/2タンパク質と呼ばれる)のリン酸化に注目し、その機能を解析しました。

HIM-3タンパク質は、減数分裂の前期に軸構造を作って、染色体を束ねる働きがあるタンパク質です。本研究グループは、HIM-3がリン酸化をうけることを前述の質量分析で同定し、このリン酸化されたフォームのHIM-3タンパク質の居場所を細胞内で可視化しました。その結果、減数第一分裂で染色体が分離されるべき部分に、このリン酸化型HIM-3タンパク質が集まることがわかりました。また、逆に、減数第二分裂で分離されるべき染色体の部分には、脱リン酸化型HIM-3(リン酸化されていないHIM-3タンパク質)が集まることもわかりました。時系列を追った解析により、HIM-3タンパク質は、まず減数分裂の初めにリン酸化を受け、次に染色体の分離面を決定すべき時に、減数第一分裂における分離面においてさらなるリン酸化が起こり、一方の減数第二分裂における分離面では、脱リン酸化が起こることで、リン酸化型および脱リン酸化型フォームをもったものが、染色体軸上で非対称に分布することがわかりました。そこで、CRISPR-Cas9ゲノム編集法を用いて、このリン酸、脱リン酸化ができないHIM-3をつくるトランスジェニック線虫を作製したところ、この線虫は、減数分裂において染色体を分離する面を決めるのが遅くなり、野生株に比べて、不妊度が高いことがわかりました。これより、HIM-3のリン酸化型、脱リン酸化型フォームを非対称に分布させることが、正常な染色体分離、そして正常な精子と卵子の形成を手助けしていることがわかりました。

## 3. 波及効果、今後の予定

HIM-3を含むHormadファミリータンパク質は、哺乳類まで保存されており、マウスにおいてもHormad遺伝子に変異を持った動物は、不妊になることが知られています。本研究は、Hormadファミリータンパク質と、相互作用するタンパク質間の結合が、リン酸化の有る無しにより調節されており、それが正常な染色体の分離、そして正常な精子と卵子の形成に重要であることを示しました。マウスのHormadタンパク質においても、線虫HIM-3と同様の部分においてリン酸化を受けることが知られているため、ヒトのHormadタンパク質も、リン酸化と脱リン酸化によって、その機能が制御されている可能性が示唆されました。

## 4. 研究プロジェクトについて

本研究は、内藤基金女性研究者研究助成金、科研費(若手 A24687024、基盤 B15H04328、若手 B17K15064、

基盤 C19K06486) の援助で行われました。京都大学、イギリス MRC(Medical Research Council) 、アメリカサンディエゴ大学の共同研究で行いました。

#### <用語解説>

1. **減数分裂**：精子、卵子、孢子などの生殖細胞を生み出すための細胞分裂。
2. **体細胞分裂**：体細胞（生殖細胞以外の細胞）が分裂して娘細胞を生み出す過程。
3. **CRISPR-Cas9 (clustered regularly interspaced short palindromic repeats / CRISPR associated proteins) ゲノム編集技術**：Cas9 タンパク質と、ガイド RNA を用いて、目的のゲノム配列に二重鎖切断を導入し、その修復過程においてゲノム配列を改変する分子生物学技術。

#### <研究者のコメント>

女性の社会進出、高齢出産が進む日本では、不妊治療を受ける適齢期夫婦の割合が増えています。一方で、正常な精子と卵子を生み出す分子メカニズムについては、基本的なことが未解明のまま多くのこされているため、特定の人の不妊になる根本的なメカニズムがわからないことが多いのが現状です。我々の研究は遺伝子改変が容易なモデル生物の解析を通して、精子と卵子が作られる分子基盤を明らかにすることで、ヒトの生殖問題の理解に貢献することを目指します。

#### <論文タイトルと著者>

タイトル Phosphoregulation of HORMA domain protein HIM-3 promotes asymmetric synaptonemal complex disassembly in meiotic prophase in *Caenorhabditis elegans* (線虫において HORMA ドメインタンパク質 HIM-3 のリン酸化制御が、減数分裂前期におけるシナプトネマ複合体の非対称な解体を促す)

著者 Aya Sato-Carlton, Chihiro Nakamura-Tabuchi, Xuan Li, Hendrik Boog, Madison K. Lehmer, Scott C. Rosenberg, Consuelo Barroso, Enrique Martinez-Perez, Kevin D. Corbett, Peter Mark Carlton

掲載誌 PLoS Genetics

DOI <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1008968>

<https://journals.plos.org/plosgenetics/article?id=10.1371/journal.pgen.1008968>