

## 相同組換えの正確性を保証するメカニズムの理解

### Unraveling the mechanisms that ensure the fidelity of homologous recombination

九州大学大学院 理学研究院 高橋達郎

相同組換えは DNA 二重鎖切断損傷を修復する重要な DNA 修復経路であり、その機能は組換え酵素による相同鎖探索反応に依存する。一方で、特に動物や植物のようなゲノムサイズの大きい生物のゲノムには、リピート配列など多数の類似配列が存在する。類似配列間の相同組換えはゲノムの再編、不安定化をもたらすため、生物は類似配列間の相同組換えを抑制し、その正確性を高めるメカニズムを進化させてきた。バクテリアでは、DNA 合成の誤りを修復するミスマッチ修復 (MMR) 因子群の全て (MutS、MutL、UvrD、MutH) が、類似配列間の相同組換え制御に機能する。興味深いことに、MMR システムが DNA 合成の誤りを修復する際にはミスマッチ塩基を削って再合成するのに対し、類似配列間の相同組換えを抑制する際には、ミスマッチ塩基を含む組換え中間体を削り込むのではなく引き剥がし、正しい相同鎖の再探索を可能とすると考えられている。この反応は抗組換え反応と呼ばれる。一方で、真核生物では、ミスマッチ塩基の修正と抗組換え反応は、大きく異なる因子群に依存することが分かってきた。真核生物において DNA 合成の誤りを修復する MMR 因子群は MutSa、MutLa、Exo1、PCNA などであるが、抗組換え反応には Exo1 や PCNA の寄与はほぼ無く、MutLa の寄与は、実験系にも依存するが MutSa よりも小さい。また出芽酵母においては、抗組換え反応に、RecQ ファミリーヘリカーゼである Sgs1 ヘリカーゼを必要とする。これらの事実は、真核生物におけるミスマッチ塩基の修正と抗組換え反応は、それぞれ大きく異なる分子メカニズムによって駆動されることを示唆する。しかしながら、特に真核生物の抗組換え反応の分子メカニズムはよく分かっておらず、動物で抗組換え反応を担うヘリカーゼもよく分かっていない。

我々は、ツメガエル卵の核タンパク質の高濃度抽出液である Nucleoplasmic extract (NPE) を用いて、様々な DNA 維持・継承反応を試験管内で再現、解析してきた。本研究では、相同組換え経路の一つである一本鎖アニーリング経路 (SSA) をモデル系に用いて、抗組換え反応の試験管内再現系を構築したので報告する。420 bp の相同領域をタンデムに持つプラスミド DNA を相同領域間で切断して NPE に加えると、相同領域間での SSA が観察された。この時、相同領域間の相同性を数%低下させると、SSA の効率は著しく減少した。このときの SSA 効率の低下はミスマッチセンサーである MutSa に大きく依存しており、抗組換え反応を反映すると考えられた。この系を用いて抗組換え反応のヘリカーゼを探索したところ、早老症の原因因子である Werner ヘリカーゼの免疫除去によって抗組換え反応が著しく低下することが分かった。さらに、塩基修正に必要なえん度ヌクレアーゼである MutLa はこの系での抗組換え反応に不要であり、抗組換え反応と拮抗する機能を持っていた。これらの結果は、真核生物のミスマッチ塩基修正反応と抗組換え反応が、MutLa と Werner のバランスによって制御される可能性を示唆する。

#### 【参考文献】

- Spies, M. & Fishel, R. Mismatch repair during homologous and homeologous recombination. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* **7**, a022657 (2015).
- Kawasoe, Y., Tsurimoto, T., Nakagawa, T., Masukata, H. & Takahashi, T. S. MutSa maintains the mismatch repair capability by inhibiting PCNA unloading. *Elife* **5**, e15155 (2016).
- Terui, R. et al. Nucleosomes around a mismatched base pair are excluded via an Msh2-dependent reaction with the aid of SNF2 family ATPase Smarcd1. *Gene Dev* **32**, 806–821 (2018).