

HORMADタンパク質と 減数分裂特異的コヒーシンの局在イメージング

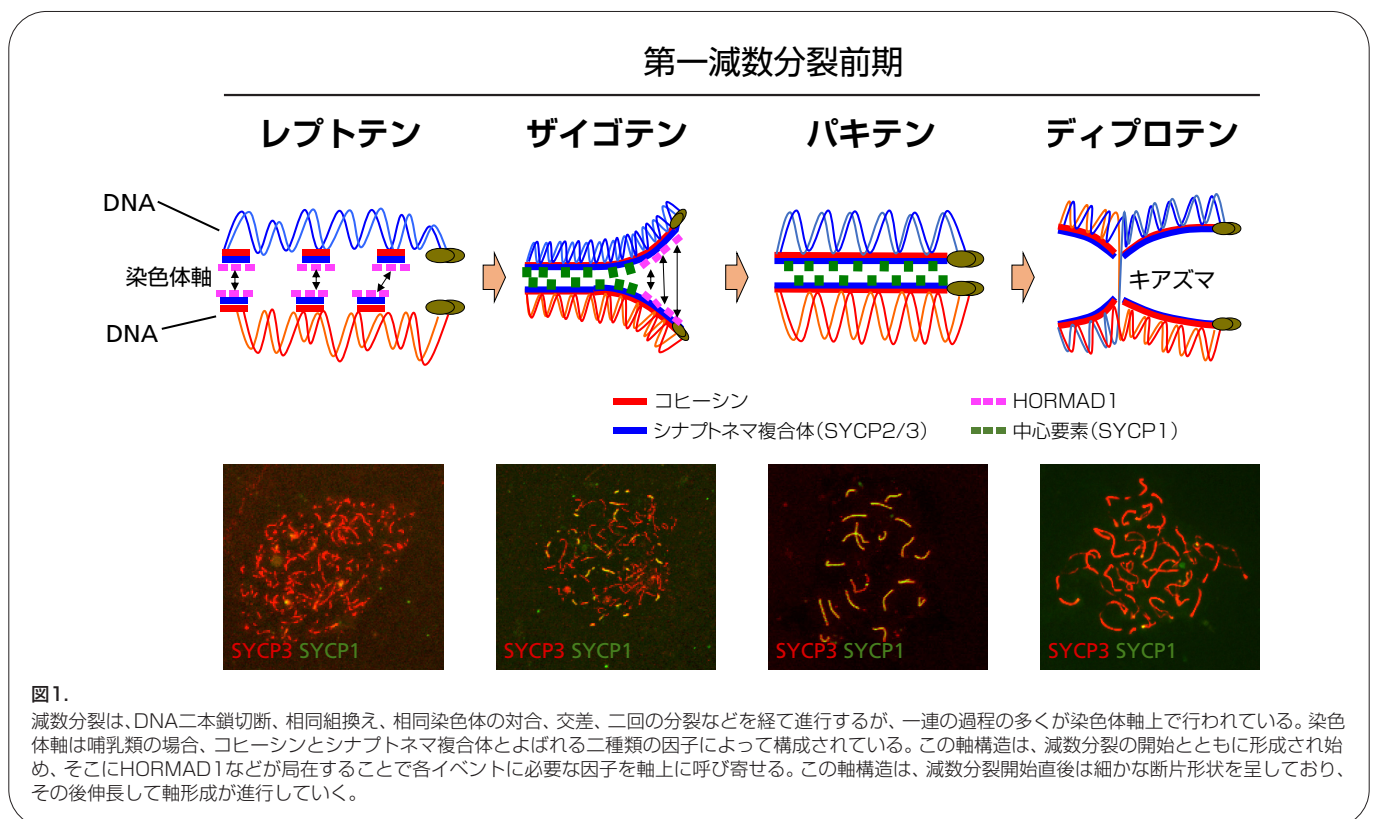
第一減数分裂前期の過程で相同染色体は対合し、父方由来と母方由来の染色体が遺伝情報の交換を行う。その際、HORMADタンパク質 (HORMAD1、HORMAD2) は、シナプシスの起きていない染色体軸に沿って局在し、ホモログシナプシスを監視することで知られている。しかし、決定的なDNA結合ドメインを含まないHORMADタンパク質が、染色体軸に局在する分子メカニズムはこれまで不明であった。本アプリケーションノートでは、東京大学 定量生命科学研究所 病態発生制御研究分野の藤原靖浩先生と熊本大学 発生医学研究所の石黒啓一郎先生との共同研究により、HORMAD1の染色体軸への局在メカニズムおよび減数分裂特異的コヒーシンであるRAD21L/REC8との相互作用について解明された成果を紹介する。

実験の概要

藤原先生らは、生殖細胞のクロマチン動態および転写調整機構に着目し、それらが細胞増殖や分化・受精にどのような機能を有するかについて研究されている。

中でも今回の研究は、初期の軸形成においてSPO11などのDNA double-strand break (DSB)因子の染色体軸へのリクルートを促進し、相同染色体のペアリングをモニターする因子でもあるHORMAD1が、どのように染色体軸に局在するかの解明およびその分子機構の解明を目的としている (図1)。

染色体軸は減数分裂特異的コヒーシン (RAD21L、REC8) とシナプトネマ複合体 (SYCP2、SYCP3) によって構成される。藤原先生らは、これらの染色体構造タンパク質が、決定的なDNA結合ドメインを含まないHORMAD1の染色体へのロードにどのように寄与するかを、超解像顕微鏡N-STORMを使用した画像取得により確かめた (図2)。



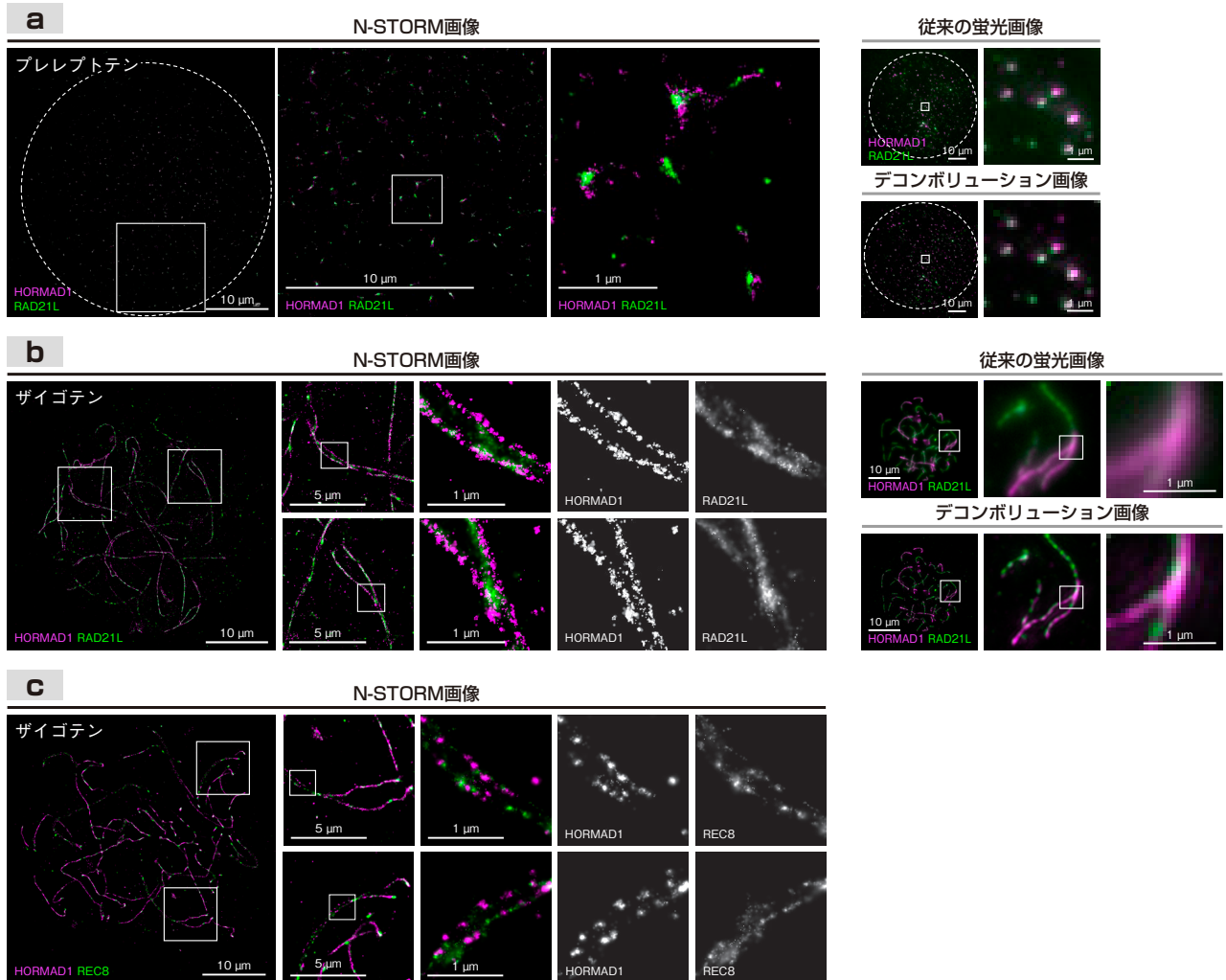


図2. HORMAD1をCF 568で、RAD21L/REC8をAlexa Fluor 647で標識した、マウス精母細胞のスプレッドクロマチン軸形成の初期段階であるプレレプトテン期における局在の並置 (a) と、サイゴテン期の軸構造におけるHORMAD1とコヒーシンの配置 (b, c) が、超解像観察により、従来の蛍光顕微鏡よりも精度よく確認できている。これらにより、第一減数分裂前期のごく初期の段階から、HORMAD1が、RAD21LおよびREC8に富むドメインに密接に並置されていることがわかる。
対物レンズ：CFI SR HP Apochromat TIRF 100XC Oil

結果とまとめ

第一減数分裂前期の軸形成初期において、相同染色体の対合をモニターするHORMAD1は、RAD21LおよびREC8とごく近接して局在していた (図2a)。そして、各因子のKOマウスを用いた解析から、HORMAD1のクロマチン上の局在は、軸形成前にコヒーシンによって媒介され、このHORMAD1とコヒーシンの相互作用はSYCP2によって部分的にサポートされている事が明らかとなった。

さらに、その後の軸形成過程においても、HORMAD1はRAD21LおよびREC8と部分的に近接した局在パターンを示し (図2b、図2c)、協調する事で軸形成に寄与している事が明らかとなった。

参考文献

Meiotic cohesins mediate initial loading of HORMAD1 to the chromosomes and coordinate SC formation during meiotic prophase.

Fujiwara Y., Horisawa-Takada Y., Inoue E., Tani N., Shibuya H., Fujimura S., Kariyazono R., Sakata T., Ohta K., Araki K., Okada Y., Ishiguro K.

PLOS Genetics (2020) 16(9), e1009048

製品情報

超解像顕微鏡 N-STORM

ローカリゼーション法の一つであるSTORM (STochastic Optical Reconstruction Microscopy) を採用し、従来の光学顕微鏡の約10倍の解像度を実現した。細胞内小器官の構造を1分子レベルで観察することが可能。

水平解像度：約20 nm

Z軸方向解像度：約50 nm

