



Title	A novel pathway of DNA double-strand break formation that is independent of loop-axis tethering
Author(s)	Ying, Zhang
Citation	大阪大学, 2022, 博士論文
Version Type	VoR
URL	<a href="https://doi.org/10.18910/89563">https://doi.org/10.18910/89563</a>
rights	
Note	

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

## Abstract of Thesis

Name ( YING ZHANG )	
Title	A novel pathway of DNA double-strand break formation that is independent of loop-axis tethering (ループ軸テザリングとは無関係にDNA二本鎖切断を生成する新しい経路)
<p>Abstract of Thesis</p> <p>Meiotic double-strand break (DSB) formation at early prophase I, which initiates homologous recombination, is essential for the meiosis. In budding yeast meiosis, Spo11, a topoisomerase VI-like protein, catalyzes DSB formation on chromatin loops. Spo11 induces DSBs by interacting with the RMM complex (Rec114–Mer2–Mei4) on the chromosome axis through loop-axis tethering, which is dependent of Spp1. Histone modification is essential for loop-axis tethering. PAF1C mediates histone H2BK123 ubiquitination, and Set1 then recognizes the ubiquitinated sites and subsequently methylates histone 3 lysine 4 (H3K4). Methylated H3K4 marks on chromatin loops are hotspots for DSB formation. Spp1 binds methylated H3K4 and tethers the hotspot to axis-bound Mer2, resulting in loops tethered to the axis. Then, Mer2 activates Spo11 to induce DSB formation. However, single <i>paf1c</i>, <i>set1</i>, or <i>spp1</i> mutants show a high level of DSBs, suggesting the presence of a loop-axis-tethering-independent regulatory pathway for DSB formation. In this thesis research, I found that the <i>paf1c</i> (<i>rtf1</i> and <i>cdc73</i>), and <i>set1</i> mutants showed a synergistic decrease in the presence of a Myc-tag on either Rec114 or Mer2 in DSB formation. However, this DSB decrease was not induced in the <i>spp1</i>, a mutant in the most essential gene in the loop-axis tethering, with Myc-tag on RMM. Hence, in DSB formation, PAF1C and Set1 both play a role in meiotic DSB formation independent of the Spp1-mediated loop-axis tethering. I speculate that PAF1C and Set1 may collaboratively methylate a component of the DSB machinery and this collaboration is critical for DSB formation in the absence of loop-axis tethering.</p>	

## 論文審査の結果の要旨及び担当者

氏名 ( Zhang Ying )		氏名
論文審査担当者	主査	教授 篠原 駿
	副査	教授 松野 健治
	副査	教授 小布施 力史
	副査	准教授 中川 拓郎

## 論文審査の結果の要旨

A novel pathway of DNA double-strand break formation that is independent of loop-axis tethering

ループ軸テザリングとは無関係に DNA 二本鎖切断を生成する新しい経路

減数分裂期の組換えはゲノムの多様性の产生と、配偶子形成に必須の役割を果たしている。減数分裂期組換えのメカニズムの解明は、減数分裂という生物の再生に必須のプロセスの理解を深めるのみならず、精子、卵子といった配偶子の機能不全による不妊や流産などの理解といった医学的な貢献も期待できる。減数分裂期では染色体が特異的な構造、ループ一軸構造を形成し、減数分裂期組換え、特に、その開始反応であるDNA 2重鎖切断形成を促進することが知られている。一方、これまでの解析からループ一軸構造に依存せずに減数分裂期組換えを制御する経路が想定されているが、その詳細はほとんど知られていない。

本申請研究では、減数分裂期のDNA 2重鎖切断形成の仕組みを明らかにするためにヒストン修飾に関わるPAF1C複合体(Rtf1, Cdc73)やその下流のヒストンH3K4メチル化酵素Set1に着目して、これら因子と染色体軸構成因子であり、DNA 2重鎖切断形成に必要な因子(Rec114, Mer2)との遺伝的な相互作用の大規模な解析を実施した。その結果、PAF1C複合体(Rtf1, Cdc73)は減数分裂期DNA 2重鎖切断形成において、Rec114, Mer2の弱い変異と遺伝的な相互作用を見出した。ヒストンH3K4メチル化はSpp1を介した軸一ループ構造の形成に必須の役割を果たすが、Rec114, Mer2との相互作用はspp1変異では見られなかった。

つまり、その成果から、軸一ループ構造に依存しない形で、PAF1C複合体やメチル化酵素Set1がDNA 2重鎖切断形成を促進している可能性が考えられる。これらの成果をもとに、ループ一軸構造に依存しない、新規のDNA 2重鎖切断形成のモデルを提唱した。

本申請研究により、減数分裂期のDNA 2重鎖切断形成における新しい制御の仕組みを提示した点において、学位に値する成果と言える。今後の進展により、当該分野での研究の発展も大きく期待できる。

よって、本論文を博士（理学）の学位論文として認める。

博士研究の一部は下記の国際誌の論文の共筆頭著者として発表している。

Ying Zhang, Takuya Suzuki, Ke Li, Santosh K. Gothwal, Miki Shinohara, and Akira Shinohara, *Genetic interactions of histone modification machinery, Set1 and PAF1C, with the recombination complex Rec114-Mer2-Mei4 in the formation of meiotic DNA double-strand breaks*. Int. J. Mol. Sci. 21(8), 2679, 2020. DOI: [10.3390/ijms21082679](https://doi.org/10.3390/ijms21082679)