Osaka University Knowledge Archive

Title	減数分裂期組換えホットスポット領域のクロマチン構造と2重鎖切断部位
Author(s)	鍋谷, 彰
Citation	大阪大学, 1994, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.11501/3079356
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

【 12 】

氏　　名	鍋谷　彰（なべたに あきら）
博士の専攻分野の名称	博　士（理　学）
学位記番号	第　11537　号
学位授与年月日	平成6年9月26日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 理学研究科　生理学専攻
学位論文名	減数分裂期組換えホットスポット領域のクロマチン構造と二重鎖切断部位
論文審査委員	(主査) 教授　小川　英行 (副査) 教授　谷口　維紹　　講師　小川　智子

論文内容の要旨

真核生物の減数分裂期は生殖細胞や配偶子を形成する重要な過程である。この細胞周期を経て，二倍体のゲノムは一倍体となるが，このとき相同な2本の染色体はそれぞれ別々の配偶子細胞に分配される。これは減数分裂期の核分裂の大きな特徴となっている。また，減数分裂期では体細胞分裂期に比べて組換え頻度が100倍から1000倍にも上昇する。この二つの事象は互いに独立したものではなく，減数分裂期組換えは相同染色体の正確な分配に必要な過程であることがわかっている。出芽酵母 Saccharomyces cerevisiae では，この減数分裂期組換えが高頻度で起こる領域（組換えのホットスッポット）にDNAの二重鎖切断が生じるのが観察される。これが酵母の減数分裂期の開始過程である。組換えに特異的な二重鎖DNA切断（DSB）が生じる機構の解析が，組換え開始の制御を理解する手がかりを与えると考え，減数分裂期で特異的にDSBを蓄積する変異株 rad50S を用い，減数分裂期組換えのホットスッポットである ARG4 遺伝子の上流領域と YCR47／YCR48 のプロモーター領域について，減数分裂期導入前と導入後の染色体を分離し，次の二点について解祈した。まず，DSB の生じる位置を正確に DNA 塩基配列上に決定し，切断位置の塩基配列に特異性があるかどうか，また，近傍の塩基配列に特徴があるかを検討した。さらにDSBの生じる位置のクロマチン構造を観察し，DSBの挿入位置とクロマチン構造の関係，また，染色体フットプリンティングを行って，DSBに特異的に関与する因子が存在するかどうかを検討した。その結果，(1) DSB が生じる場所は，southern blot で検出された領域内に，DNA上では数ケ所ある。(2) 切断の生じる位置の塩基配列に特異性ない。(3) 切断点もフラッシュ端やコヘッシブ端などさまざまである。(4) DSB はヌクレオソーム構造を取らない領域内に生じるが，実際に生じている二重鎖切断はそのような領域のごく一部の場所である。(5) 二重鎖DNA切断部位に特異的なフットプリントが観察された。以上のことから，二重鎖切断はクロマチン内でフリーな領域に入るが，実際の切断部位を決定する機構がヌクレオソーム構造以外にあることがわかった。おそらくこの領城の塩基配列やクロマチン構造による影響でDNA上の特定の部位に構造変化が起こり，二重鎖切断を引き起こしていると考えられる。また減数分裂期特異的に観察されたフットプリントは，二重鎖切断部位のDNA構造が変化したり，部位特異的に蛋白質が結合することを示している。これを引き起こす因子が，二重鎖切断の部位特異性の決定を通して，二重鎖切断機構に関与していると考えられる。

論文審査の結果の要旨

減数分裂期の遺伝的組換えは，組換えホットスポット領域にDNA二重鎖切断が入り開始される。鍋谷君は，その切断端をDNA塩基配列上で決定した。切断は，クロマチン構造を取らない領域の一部に複数箇入り，近くに10塩基以上のAクラスターがあることが分かった。切断の特徴から切断に関与する活性は一本鎖切断を行うものであるという仮説を提出した。これらの成果は，組換えの開始機構の研究に新しい局面を開くもので，博士（理学）の学位論文として十分価値のあるものと認める。