



|              |   |
|--------------|---|
| Title        | The Regulation of RNA Splicing and the Role of Mer3 Helicase in Meiotic Recombination |
| Author(s)    | 中川, 拓郎  |
| Citation     | 大阪大学, 1998, 博士論文  |
| Version Type | VoR   |
| URL          | <a href="https://doi.org/10.11501/3143777">https://doi.org/10.11501/3143777</a>       |
| rights       |   |
| Note         |   |

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

|            |   |
|------------|---|
| 氏名         | 中川拓郎  |
| 博士の専攻分野の名称 | 博士(理学)  |
| 学位記番号      | 第13663号   |
| 学位授与年月日    | 平成10年3月25日  |
| 学位授与の要件    | 学位規則第4条第1項該当<br>理学研究科生理学専攻  |
| 学位論文名      | The Regulation of RNA Splicing and the Role of Mer3 Helicase in Meiotic Recombination<br>(RNAスプライシングとMer3ヘリカーゼによる減数分裂期組換えの制御) |
| 論文審査委員     | (主査)<br>教授 小川 英行  |
|            | (副査)<br>教授 杉野 明雄 教授 荒木 弘之 教授 品川日出夫  |

### 論文内容の要旨

#### RNAスプライシングによる減数分裂期組換えの制御

減数分裂期組換えは染色体DNAの二重鎖切断(DSB)により開始する。私は、RNA結合タンパクをコードする出芽酵母MRE2がDSB形成に必須なMER2の減数分裂期特異的RNAスプライシングに必要であることを明らかにした。ところが、MER2イントロンを除去したcMER2遺伝子を導入したmre2 $\Delta$  cMER2株は遺伝子変換型組換え(noncrossover)は正常だが交叉型組換え(crossover)に欠損を持つことが分かった。

Crossoverの分子機構を知る為に、mre2 $\Delta$  cMER2株の組換え欠損を抑制するサプレッサーのスクリーニングを行い、MER3遺伝子の同定に成功した。MER3 RNAのスプライシングにもMRE2が必要であった。MER2, MER3イントロンは共にコンセンサス配列と異なる5'スプライス部位を持つ。よって、そのスプライシングにMRE2が必要だと考えられる。

#### Mer3ヘリカーゼのcrossoverに於ける役割

MER3は、その塩基配列からヘリカーゼとZnフィンガーのモチーフを持つ蛋白をコードする。mer3 $\Delta$ 株を作製し解析を行った結果、noncrossoverが増加し、逆に、crossoverは減少することが分かった。よって、MER3は2つの組換えのバランスを制御し、特にcrossoverに必要だと考えられる。また、MER3は染色体上に於けるcrossoverの分布制御にも必要であった。更に、mer3 $\Delta$ 株では第一減数分裂で相同染色体が不分離を起こすことが観察された。不分離を起こした染色体間ではcrossoverが見られなかった。

DNAレベルで組換え現象を調べたところ、mer3 $\Delta$ 株ではDSBの蓄積が見られ、その修復過程に欠損を持つことが示された。また、ヘテロ二重鎖DNAの形成を調べた結果、mer3 $\Delta$ 株ではDSB部位から離れた位置でのヘテロ二重鎖形成が野生株に比べ大きく減少していた。これらは、DNA鎖交換反応にMER3が働くことを示唆する。

間接蛍光抗体法によりRad51, Dmc1(RecAホモログ)の染色体上での局在を調べた結果、mer3 $\Delta$ 株ではRad51, Dmc1が点状に局在した状態で細胞周期が停止していた。また、抗Mer3抗体を用いた実験から、Mer3は相同染色体が対合した所に点状に局在することが観察された。

以上より、Mer3ヘリカーゼはcrossoverの正常な頻度と分布に必要であり、相同染色体の正確な分配に寄与する

と考えられる。また、Mer3がRad51、Dmc1などと共にDNA鎖交換反応に働く可能性が挙げられる。

#### 論文審査の結果の要旨

酵母の減数分裂期組換えに必要な遺伝子 *MRE2* が、*MER2* 遺伝子の転写産物のスプライシングを介して、その開始、二重鎖切断に関与すること、また、新しく発見した遺伝子、*MER3* の転写産物のスプライシングにも関与して、乗換型と遺伝子変換型組換え体の比率を制御することも明らかにした。組換えのそれぞれ重要なステップを、スプライシングを介して制御する遺伝子の解明と減数分裂期組換えの後期過程の解析はユニークであり、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。