



|              |                                                                                                                                                                                                                                                                      |
|--------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Title        | Genetic and Physical Analyses of Meiotic Recombination Pathway in <i>Saccharomyces cerevisiae</i>                                                                                                                                                                    |
| Author(s)    | 定塚, 勝樹                                                                                                                                                                                                                                                               |
| Citation     | 大阪大学, 1993, 博士論文                                                                                                                                                                                                                                                     |
| Version Type |                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| URL          | <a href="https://hdl.handle.net/11094/38081">https://hdl.handle.net/11094/38081</a>                                                                                                                                                                                  |
| rights       |                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| Note         | 著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">＜a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"&gt;https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> >大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。 |

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

|               |                                                                                                                                                                                  |
|---------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 氏 名           | じょう づか かつ き<br>定 塚 勝 樹                                                                                                                                                           |
| 博士の専攻分野の名称    | 博 士 (理 学)                                                                                                                                                                        |
| 学 位 記 番 号     | 第 1 0 6 0 3 号                                                                                                                                                                    |
| 学 位 授 与 年 月 日 | 平成 5 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     | <b>Genetic and Physical Analyses of Meiotic Recombination<br/>Pathway in <i>Saccharomyces cerevisiae</i></b><br>(酵母 <i>Saccharomyces cerevisiae</i> の減数分裂期組換え過程の遺伝学的、<br>物理学的解析) |
| 論 文 審 査 委 員   | (主査)<br>教 授 小川 英行<br><br>(副査)<br>教 授 森田 敏照 教 授 谷口 維紹<br>講 師 小川 智子                                                                                                                |

### 論 文 内 容 の 要 旨

酵母 *S.cerevisiae* は最も簡単な真核生物の 1 つで遺伝的な解析が容易なため、組換え過程の解析も主に酵母で行なわれてきた。酵母では組換え欠損の変異株が多数あり、その内組換えと修復に関与する *RAD 52* 遺伝子群が知られている。この中の *rad 51* から *rad 57* までの変異株では、減数分裂、有糸分裂期で組換え欠損となり、同時に DNA の 2 本鎖切断傷害の修復にも欠損を示す。ところが *MRE 11* と *RAD 50* 遺伝子の欠損株は、DNA 修復欠損及び減数分裂期組換え欠損を示すが、有糸分裂期組換えは野生型と同様、又は高頻度に観察された。このような性質の変異株は他になく、この変異株の解析により組換えと修復過程の関係について新しい知見が得られると考えられる。そこで私は、減数分裂期組換え過程と DNA の修復過程での *MRE 11* と *RAD 50* 遺伝子の役割に注目した。

減数分裂期で DNA の特異的部位に 2 本鎖切断；DSB が起きることが観察され、この部位の組換えが高頻度に観られる事から、DSB が組換えと深く関わると考えられる。そこで減数分裂期での *MRE 11* 遺伝子の役割を調べるため、*mre 11* 欠損株を作り、減数分裂期で DSB を観察した。その結果、*mre 11* 欠損株では全く DSB が観察されなかった。また減数分裂期で *mre 11* 欠損株の作る胞子は全て致死となったが、これは減数第一分裂での相同染色体の分配異常によると思われる。そこで第一分裂を行なわない *spo 13* 変異を持った二重変異株を作ったところ胞子の生存率が回復した。以上の結果から、*MRE 11* 遺伝子産物は減数分裂期組換えの初期過程で、DSB 形成に機能していると考えた。

*MRE 11* 遺伝子と *RAD 50* 遺伝子の関係を調べるために *mre 11 rad 50* 二重変異株を作り、先ず有糸分裂期で MMS により傷害を加えた。その結果、二重変異株は各々の単独変異株と同じ感受性を示し感受性の増加は見られなかった。このことから修復過程では、両者は同一経路に位置する事がわかった。一方減数分裂期での両者の関係を調べるため、減数分裂組換え過程で DNA 上に DSB がたまり、また胞子形成がない *rad 50S* 変異を使った。*mre 11 rad 50S* 二重変異株では DSB が、各々の単独欠失変異と同様観られず、また胞子形成頻度が *mre 11* 欠損株のそれに等しい値まで回復したことから、減数分裂期組換え過程で両者は同一の組換え経路に属し、*MRE 11* の方が *RAD 50* よりも前、もしくは同じ段階に働いていることが解かった。また両者の遺伝子上流に転写制御領域と思われる領域が 2 ケ所あり、さらに減数分裂期での両遺伝子の転写量の変動が類似している事から、同一の段階で働くと考えられる。

減数分裂期組換えの初期過程（2 本鎖切断前）と有糸分裂期における DNA 修復過程（2 本鎖切断後）での *MRE 11* の共通した役割を理解するため、高頻度で同調的に減数分裂に入る *mre 11* 温度感受性変異株；*mre 11ts* を作り、減数分裂期中で温度変化を行ない DSB を観察した。その結果、DSB 後、野生型ではその末端がプロセスされるが

*mre11ts* の場合、高温にすると DSB 末端がプロセスされずに残り、組換え体も検出されなかったことから、*MRE11* 遺伝子は組換え過程で DSB 以前と以後の両過程に役割を持つことがわかった。また *mre11ts* は高温で修復欠損であるので、この DSB 以後の機能が修復過程での欠損となっていると理解できる。また減数分裂期組換えの初期過程である DSB が起きる機構を調べる上で、*mre11ts* を使った温度変化による DSB 検出系は有用であると考えられる。

### 論文審査の結果の要旨

酵母の減数分裂組換えに関与する遺伝子 *MRE11* をクローニングし、その構造を明らかにした。その欠損変異は、異なる遺伝子 *RAD50* の欠損変異と表現型が同じであったが、両者の二重変異株の性質から遺伝学的に *MRE11* が *RAD50* の上位にあることがわかった。*MRE11* の温度感受性変異株を分離し、減数分裂期で温度シフトを組み合わせた実験を行ない、*MRE11* は *RAD50* と協同して組換えの初期過程である DNA に二重鎖切断を入れる過程とそれ以後のプロセシングの過程を制御していることを明らかにした。この成果は博士（理学）の学位論文として十分価値のあるものと認める。