

| | |
|--------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Title | Characterization of the RAD55 gene in <i>Saccharomyces cerevisiae</i> and its function in meiosis |
| Author(s) | 桑原, 秀 |
| Citation | 大阪大学, 1992, 博士論文 |
| Version Type | |
| URL | https://hdl.handle.net/11094/38324 |
| 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"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。 |

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

| | |
|---------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 氏 名 | 桑 原 秀 <small>くわ はら しげる</small> |
| 博士の専攻分野の名称 | 博 士 (理 学) |
| 学 位 記 番 号 | 第 1 0 4 3 2 号 |
| 学 位 授 与 年 月 日 | 平 成 4 年 10 月 6 日 |
| 学 位 授 与 の 要 件 | 学位規則第4条第2項該当 |
| 学 位 論 文 名 | Characterization of the <i>RAD 55</i> gene in <i>Saccharomyces cerevisiae</i> and its function in meiosis (サッカロミセス酵母の <i>RAD55</i> 遺伝子の構造と減数分裂期での 機能の解析) |
| 論 文 審 査 委 員 | (主査) 教 授 小川 英行 (副査) 教 授 森田 敏照 講 師 小川 智子 |

博 士 論 文 の 要 旨

申請者は、組換えに関与する遺伝子の機能を明らかにするという側面から真核生物の組換えの分子機構を解明することを目的として解析を行っている。酵母の組換え修復系に働いている *RAD55* 遺伝子を単離し、塩基配列を決定したところ、406アミノ酸残基からなり、アミノ端側に ATP 結合蛋白質と相同配列を持つ蛋白をコードする一つのオープンリーディングフレームが同定された。大腸菌量産系を用いて調製した蛋白で Rad55 蛋白質に対する抗体を作成し酵母細胞内で47キロダルトンの蛋白を同定した。*rad55* 欠失変異株は、胞子形成過程に欠損を生じており胞子が致死となったが、*spo13* 変異を導入してもその生存率は回復しなかった。減数分裂期組換えは野生株の100分の1に低下しており、また、その誘発が遅れていた。組換えのホットスポットで検出された二重鎖切断は修復されず、その末端は野生株に比べてプロセスされる度合いが大きいことが判った。物理的な手法で検出される組換え体の量は、*rad51* 変異株と同様に減少している。興味深いことに、このように組換えの欠損が見られるにも関わらず、SC形成や紡錘極体の形成は3時間遅れるものの野生株と同様の頻度で観察される。*RAD55* 遺伝子の転写量は、減数分裂期移行後2時間でピークに達し、その後、数時間は保たれる。*RAD50*、*RAD51*、*RAD52* 遺伝子と比べ非常に早い時期に転写が誘発される。*rad55* 変異株の持つ欠損を相補可能な *RAD55-lacZ* 融合遺伝子を作成し、融合蛋白質が ATP 非依存性の単鎖、及び二重鎖 DNA 結合活性を持つことを示した。

これらの結果は、Rad55 蛋白質が減数分裂期組換え過程に必須であることを示し、DNA 二重鎖切断の修復過程の比較的早い段階で DNA に結合した形で機能することを示唆する。また、この遺伝子が *RAD51* 遺伝子よりも前の段階で組換えに関わっていると予想される。遺伝学的に、或は、物理的な手法を用いた結果から、変異株では組換え反応の効率が非常に低いことが明らかになったが、形成される SC は正常だった。*rad50S* 変異株での DNA 二重鎖切断点では、その末端がプロセスされず、同時に axial core 形成から SC 形成への過程が欠損していることを考え合わせると、SC 形成には DNA 二重鎖切断の際の末端のプロセッシングが必要なのではないかと考えられる。

論文審査の結果の要旨

酵母の組換えと DNA 修復に関与する遺伝子 RAD55 の、減数分裂期組換えに関する機能を分子遺伝学的に解析した論文である。この遺伝子の蛋白質が減数分裂期の進行に関与すると同時に、組換え過程で DNA 二重鎖切断が起こった後に働くこと、しかも DNA の 3' 末端に結合して働くことを明らかにした。この成果はこの分野の研究に大きな飛躍をもたらしたもので、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。