



Title	Functions of Yeast MRE11 in DNA double-strand break repair and meiotic recombination
Author(s)	坪内, 英生
Citation	大阪大学, 1999, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/41128
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏名	坪内英生
博士の専攻分野の名称	博士(理学)
学位記番号	第14782号
学位授与年月日	平成11年3月25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	Functions of Yeast <i>MRE11</i> in DNA double-strand break repair and meiotic recombination (出芽酵母 <i>MRE11</i> 遺伝子の DNA 二重鎖切断修復および減数分裂期組換えに於ける役割)
論文審査委員	(主査) 教授 品川日出夫
	(副査) 教授 杉野明雄 教授 小川智子 助教授 米崎哲朗

論文内容の要旨

出芽酵母の *MRE11* 遺伝子は、DNA の二重鎖切断 (DSB) 傷害修復と減数分裂期組換えに中心的な役割を果たしている。酵母の DSB 修復は主に相同組換えによって修復されると考えられているが、*mre11* 欠失株は体細胞分裂期の自発的組換え頻度が野生株よりも上昇するなど、組換えが欠損せず、その DSB 修復過程への関与は不明であった。減数分裂期では、組換え頻度が体細胞分裂期の約1000倍の頻度で上昇し、この減数分裂期組換えは減数第一分裂における相同染色体の分配に必須である。*mre11* 欠失株では、この減数分裂期組換え開始反応である減数分裂期特異的 DSB 形成が欠損するため組換えの誘発が全く起こらない。Mre11 蛋白は一次構造上の特徴として、ホスホエステラーゼのモチーフを保持している。

真核生物の DSB は末端結合修復系と組換え修復系により修復される。*mre11* 変異がこの二つの修復系へ及ぼす影響を調べたところ、*in vivo* での DSB 末端結合効率が著しく低下していた。また、相同組換えへの影響を酵母の接合型変換過程をモデルにして解析したところ、ホスホエステラーゼコンセンサス上に変異のある *mre11-58* 株で、その初期過程である DSB 末端のプロセッシングの過程に欠損があることが分かった。さらに、組換え体形成速度の低下が見られたが、組換え体自体は野生株と同じ量が形成された。*mre11* のメチルメタンスルホン酸 (MMS) に対する高感受性は、酵母の 5'-3' エキソヌクレアーゼである *EXO1* の高発現により抑制された。また、*mre11* と *exo1* の二重変異株は、それぞれの単独変異株より MMS に高感受性を示し、DSB のプロセッシングは更に低下した。以上の知見は、*MRE11* が DSB 傷害修復において、末端結合修復系に関与すると同時に、組換え修復系においては、その初期過程である DSB 末端のプロセッシングに関与することを示唆している。さらに、DSB プロセッシングにはホスホエステラーゼ活性が必要なことが示唆された。

減数分裂組換えの開始反応である DSB 形成は減数分裂期特異的 II 型トポイソメラーゼである Spo11 によって行われるが、その過程で DSB の 5' 端と Spo11 の共有結合した中間体が形成される。*mre11-58* 株では減数分裂期組換えが欠損し、その開始反応である DSB 形成は起こるが DSB のプロセッシングは完全に阻害され、その末端はプロテクトされていた。このことから Mre11 のホスホエステラーゼ活性は Spo11 を DSB 末端から除去するのにも必要と考えられる。また、減数分裂期組換えと DSB 修復の機能が分離する *mre11* 点変異株をスクリーニングした結果、減数分裂期 DSB 形成が特異的に欠損する *mre11* 点変異株では、そのカルボキシル末端が最大136 アミノ酸欠失していた。この変異株では DSB 修復は正常であった。これらのことから、Mre11 の DSB 形成とプロセッシングに於ける機能は

完全に分離でき、カルボキシル末端は減数分裂期DSB形成特異的機能を持つことが明らかとなった。

論文審査の結果の要旨

本研究によって出芽酵母のMre11タンパク質は(1)減数分裂期組換えの開始の二重鎖切断の導入(2)減数分裂期組換えと組換え修復において切断末端のエキソヌクレアーゼ活性によるプロセッシング(3)二重鎖DNA切断の末端再結合による修復の3つの機能に関与することが明らかにされた。

この研究成果は減数分裂期組換えと二重鎖切断修復の機構の解明に重要な貢献をしたと考えられるので、博士（理学）の学位論文として十分価値のあるものと認められる。