



| | |
|--------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Title | Mechanism of Filament Formation in RecA Protein |
| Author(s) | 美川, 努 |
| Citation | 大阪大学, 1999, 博士論文 |
| Version Type | |
| URL | https://hdl.handle.net/11094/41591 |
| 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 | 美 川 努 |
| 博士の専攻分野の名称 | 博 士 (理 学) |
| 学 位 記 番 号 | 第 1 4 4 1 4 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 1 項該当 理学研究科生物科学専攻 |
| 学 位 論 文 名 | Mechanism of Filament Formation in RecA Protein (RecA 蛋白質のフィラメント形成機構) |
| 論 文 審 査 委 員 | (主査) 教 授 倉 光 成 紀 (副査) 教 授 杉 野 明 雄 教 授 品 川 日 出 夫 |

論 文 内 容 の 要 旨

はじめに

RecA 蛋白質による DNA 組換え反応は、多数の RecA 分子が DNA 上に形成するフィラメント構造を介して進行し、ATP の加水分解を伴う。この蛋白質は溶液中でもフィラメント構造を形成し、その集合状態は蛋白質濃度や塩濃度などによって変化する。私は RecA 蛋白質のフィラメント形成機構を明らかにするために、以下の研究を行ってきた。

1. RecA 核蛋白質フィラメントの基質 ATP に対する非常に高い協同性

RecA 蛋白質は核蛋白質フィラメントとしてのみ活性を発現する。そこで、RecA 蛋白質の ATPase 活性をフィラメント全体として、特にその協同性に注目して調べた。その結果、RecA 核蛋白質フィラメントは基質に対して大きな正の協同性を示し、フィラメント中の RecA 1 分子に 1 分子の ATP が結合すると、その周辺の少なくとも 12 分子の RecA 蛋白質の構造が変化することが示唆された。

2. フィラメント形成に対する N 末端ドメインの寄与

限定分解で得られた N 末端ドメインを欠く RecA 蛋白質 ($\Delta 33$ RecA) は溶液中で単量体として存在していた。そこで、 $\Delta 33$ RecA を大量に調製し、その性質や野性型酵素に対する影響を調べた。その結果、RecA 蛋白質の N 末端ドメインはフィラメント形成に必要な二つの相互作用部位のうちの一つであり、フィラメント形成過程そのものに対して、速度的な面で寄与していることが明らかになった。

3. フィラメント形成に伴う N 末端ドメインの構造転移

低濃度の尿素や低蛋白質濃度によって得た単量体 RecA 蛋白質の N 末端ドメインは二次構造を形成していなかった。このことから、N 末端ドメインは解離した状態では特定の構造をとらず、フィラメント形成に伴って構造を形成することが示唆された。また、ペプチド合成で調製した N 末端ドメインは $\Delta 33$ RecA に残されたもう一つの相互作用部位への結合に伴って α ヘリックスを形成した。これらのことから、RecA 蛋白質の N 末端ドメインは、その構造転移を利用してフィラメント形成における解離・会合の速度を調節していると考えられた。

4. フィラメント形成に関与する会合状態

RecA 蛋白質は溶液中で様々な会合状態の多量体として存在し、この性質が DNA 上へのフィラメント形成に対する解析を難しくしてきた。そこで、構造的に安定な高度好熱菌の RecA 蛋白質 (ttRecA) とカオトロピックイオン

を利用して、会合状態の制御を試みた。その結果、活性に影響を与えない程度の低塩濃度で、ttRecA を高度な会合体、六量体、単量体の各状態にすることに成功し、各会合状態すべてから RecA 核蛋白質フィラメントの形成が観察された。RecA 蛋白質が単量体でも DNA に結合することが明らかになったことから、溶液中に存在する様々な会合状態の多量体 RecA 蛋白質が、単量体を経てフィラメント形成することが示唆された。

論文審査の結果の要旨

RecA 蛋白質による DNA 組換え反応は、RecA 蛋白質が DNA 上でフィラメント構造を形成し、ATP の加水分解を伴いながら進行する。そのフィラメントは、基質の ATP に対してこれまで考えられていたよりもはるかに高い協同性を示すことを明らかにした。さらに、単量体が順次会合してフィラメントが形成されることを示唆するとともに、そのフィラメント形成速度を、RecA 蛋白質の N 末端の α -ヘリックスが調節していることも見出した。本研究によって得られた知見は、DNA の組換え反応において中心的役割を果たしている RecA 蛋白質のフィラメント形成機構を理解するうえで極めて重要であり、本論文は博士（理学）の学位論文として十分価値あるものと認める。