



Title	Various Basic Functions of Mre11 in Recombination and Repair of DNA Damage in <i>Saccharomyces cerevisiae</i>
Author(s)	押海, 裕之
Citation	大阪大学, 2001, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/42508
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	おし 押 海 裕 之
博士の専攻分野の名称	博 士 (理 学)
学 位 記 番 号	第 1 5 9 7 9 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 13 年 3 月 23 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	Various Basic Functions of Mre11 in Recombination and Repair of DNA Damage in <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (遺伝的組換えと DNA 傷害修復に於ける出芽酵母 Mre11 蛋白質の機能解析)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 品川日出夫 (副査) 教 授 小川 智子 (遺伝研) 教 授 升方 久夫

論 文 内 容 の 要 旨

DNA 組換えは、遺伝的多様性を生み出し、X線等によって生じる DNA 二重鎖切断の修復に働く。出芽酵母の *MRE11* は、減数分裂期組換えの開始反応である DNA 二重鎖切断形成とその末端の消化、X線等によって生じる DNA 二重鎖切断の組換え修復など、細胞内の様々な組換え反応に関与することから、DNA 組換え機構を明らかにするうえで、Mre11 の機能を明らかにすることは非常に重要である。Mre11 は一本鎖 DNA 切断活性や二本鎖 DNA 末端を消化する活性、DNA 巻き戻し活性等の様々な活性を持つ。しかし、これらの機能が各過程でどのように働くかは明かとなっていない。そこで、それぞれの機能だけに欠損を持つ *mre11* 変異株を作成し、各機能の細胞内での役割を調べることで Mre11 の関与する反応機構の解明を試みた。

Mre11 の C 末端に存在する DNA 結合領域 B (サイト B) を欠失する変異株などの C 末端に変異を持つ株は、減数分裂期組換えの開始反応である DNA 二重鎖切断の形成ができなかった。一方、DNA 結合領域 A (サイト A) や、ホスホエステラーゼのコンセンサス配列に変異を持つために DNA 切断活性を失っている変異株は、DNA 二重鎖切断は形成できたが、その末端を消化できなかった。その時の DNA 末端の構造を調べると、DNA 二重鎖切断に必要な因子の一つ、Spo11 蛋白質が DNA 末端と共有結合していた。また、ヌクレアーゼ活性を失った株と C 末領域に変異を持つ株をかけ合わせたヘテロ接合体は減数分裂期組換えに欠損がなかった。以上のことから、DNA 二重鎖切断形成時には Mre11 はサイト B で DNA に結合するのに対し、二重鎖切断形成後は、サイト A で DNA と結合し DNA 末端を巻き戻すことで一本鎖 DNA 領域を作りだし、DNA を切断すると考えられる。

次に、DNA 傷害修復について調べたところ、両方の DNA 結合領域が DNA 修復に必要であることがわかった。また、DNA 修復には、ヌクレアーゼ活性に依存する反応と依存しない反応があることがわかった。興味深いことに、接合型をきめる *MAT* 遺伝子座で起きる相同組換え反応では *mre11* 欠失株は DNA 末端の消化に欠損を示すが、ヌクレアーゼ活性を失っている株では欠損はなかった。これは、Mre11 の DNA 巻き戻し活性が、DNA 末端を消化する反応に関与する可能性を示唆している。

これまでに報告されていた *sae2* 遺伝子欠失株が、我々の単離したヌクレアーゼ活性を失った *mre11* 変異株と同じ表現型を示すことから、*SAE2* 遺伝子に注目し、解析したところ、Sae2 蛋白質は Mre11 の N 末側と結合することがわかった。また、この他、Sae2 蛋白質が DNA に結合できることがわかった。次に DNA 修復への関与を調べたところ、サイト A を欠失した *mre11-6* 変異と *sae2* 遺伝子欠失の二重変異株は、*mre11-6* 単独変異にくらべ、DNA

修復に非常に強い欠損を示した。このことから、Sae2 の機能は減数分裂期組換えだけでなく、Mre11の行う DNA 修復反応にも必要であることが明らかとなった。

論文審査の結果の要旨

DNA 組換えに必要な出芽酵母 Mre11の機能解析と Sae2 蛋白質の解析は、多機能を持つ Mre11蛋白質の各機能がどのように組換え反応で働くかを明らかにし、Mre11複合体の構成因子として、新たに Sae2 が含まれることを発見した。これらの結果により、DNA 組換えで Mre11がどのように働くかが明らかとなった。よって博士（理学）の学位論文として十分価値あるものと認める。