



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	押海裕之
博士の専攻分野の名称	博士(理学)
学位記番号	第15979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ことによって、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末端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末端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。