

Title	A Recombination Repair Gene of <i>Schizosaccharomyces pombe</i> , rhp57, Is a Functional Homolog of the <i>Saccharomyces cerevisiae</i> RAD57 Gene and Is Phylogenetically Related to the Human XRCC3 Gene
Author(s)	筒井, 康博
Citation	大阪大学, 2002, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/43903">https://hdl.handle.net/11094/43903</a>
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">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</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	筒井康博
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 17199 号
学位授与年月日	平成 14 年 5 月 14 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科情報伝達医学専攻
学位論文名	A Recombination Repair Gene of <i>Schizosaccharomyces pombe</i> , <i>rhp57</i> , Is a Functional Homolog of the <i>Saccharomyces cerevisiae</i> <i>RAD57</i> Gene and Is Phylogenetically Related to the Human <i>XRCC3</i> Gene. (分裂酵母 <i>rhp57</i> は出芽酵母 <i>RAD57</i> の機能的ホモログであり、分子進化的にヒト <i>XRCC3</i> に近縁である。)
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 野島 博

### 論文内容の要旨

#### 【目的】

原核生物における組換え修復機構は大腸菌を用いた解析などから、前期・中期・後期の3つの過程で行われることが分子レベルで解明されつつある。一方、真核生物における組換え修復機構の解析は主に出芽酵母を用いて行われており、前期・中期については原核生物と類似した機構であることが明らかになってきた。しかしながら、原核生物に比べてより多くの因子が関与することから未知の部分も多く、高等生物になるほど複雑になり解析は困難となっている。そこで、出芽酵母よりも効果的な組換え修復機構を持つと考えられる分裂酵母を用いて、新規の組換え修復因子の同定を試み、ヒトを含めた真核生物における組換え修復機構を明らかにすることを目指した。

#### 【方法ならびに成績】

分裂酵母 *rad2* 遺伝子は岡崎フラグメントのプロセッシングに関与しており、その欠損は二重鎖切断の多発を引き起こすために *rad2* 変異株は生存に組換え修復機能を必要とすると考えられている。実際、*rad2Δ* 株は組換え修復に働く *rhp51* (出芽酵母 *RAD51* ホモログ) 遺伝子との二重変異で致死となることが知られている。そこで、効果的に組換え修復遺伝子が同定できることを狙って、*rad2Δ* と合成致死となる突然変異株をスクリーニングし、なおかつガンマ線やMMSなどによるDNA損傷に対する感受性を示した7株を *slr* (synthetic lethal with *rad2*) 変異株とした。そのうちの1つ、*slr* 変異株について原因遺伝子を同定したところ、出芽酵母 *RAD57* と高い相同性をもつ新規遺伝子であった。この遺伝子の破壊株はガンマ線などに感受性を示し、その感受性は低温で強くなることが見られた。エピスタシス解析から *rhp51* と同じ経路に働くことが分かった。また、体細胞分裂期における組換え頻度の減少が観察された。こうした表現型から機能的にも出芽酵母 *RAD57* のホモログであることが示唆され、この遺伝子を *rhp57* (*RAD57* homolog of *S. pombe*) と名付けた。一方、分子系統樹解析により、*Rhp57* は、ヒトでこれまでに同定されている5種の *RecA/Rad51* 様タンパク質のうち、*Xrcc3* と分子進化的に近縁であることが判明した。

出芽酵母においては *RecA/Rad51* 様タンパク質である *Rad55*、*Rad57* がヘテロ二量体を形成し、*Rad55* を介した

相互作用により Rad51 の機能をアクセサリ因子として補助していると考えられている。分裂酵母 Rhp51、Rhp55 (出芽酵母 *RAD55* ホモログ)、Rhp57 の相関関係を two-hybrid 法によって調べた結果、Rhp57 と Rhp51 の強い相互作用が観察され、さらに免疫沈降法によって両者が生体内で安定なヘテロ二量体を形成することを確かめた。しかしながら、Rhp51 と Rhp55 の相互作用は見られなかった。出芽酵母と異なり分裂酵母においてはアクセサリ因子であるヘテロ二量体の Rhp51 への相互作用は Rhp57 を介することが明らかになった。さらに、Rhp57 と同時期に機能すると考えられるタンパク質間の相互作用も two-hybrid 法によって調べたところ、Rhp51-Rhp54、Rhp51-Rad22、Rhp51-Rtil、Rad22-Rtil、Rad22-RPA、Rtil-RPA の組み合わせで相互作用が見られ、結合ドメインの違いはみられたが、おおまかな相関関係は出芽酵母で報告されているものと類似していることが分かった。

#### 【総括】

分裂酵母を用いて、組換え修復に関与する新規遺伝子 *rhp57* を単離することが出来たことは今回用いた *rad24* との合成致死性を指標にしたスクリーニングが組換え遺伝子の同定に効果的であることを示唆している。今のところ、組換え修復の後期過程に関与する遺伝子は同定出来ていないが、このスクリーニングによって突然変異株を多数単離することでそのような因子が同定できることが期待される。また、two-hybrid 法による解析から、出芽酵母と分裂酵母における相同組換えの基本的なメカニズムは類似していたが、いくつか相違点も見られた。最も注目すべき点は、出芽酵母においては、Rad55-Rad57 ヘテロ二量体は Rad55 を介して Rad51 へ相互作用するのに対して、分裂酵母においては Rhp55-Rhp57 ヘテロ二量体の Rhp51 への相互作用が Rhp57 を介することである。ヒトにおいて、すでに同定されている RecA/Rad51 様タンパク質 5 種類のうち、hRad51 と相互作用することが報告されているのは、Rhp57 に分子進化的に近縁な hXrcc3 のみである。また、出芽酵母では RecA/Rad51 様タンパク質が 2 種類しか存在しないのに対して、分裂酵母では Rhp55、Rhp57 以外にも少なくとももう 1 種類の RecA/Rad51 様タンパク質が存在することが明らかになっている。こうしたことは分裂酵母がヒトの組換え修復機構を理解するための有用なモデル生物であることを示唆している。

#### 論文審査の結果の要旨

本研究は、*rad24* との合成致死性を指標にしたユニークなスクリーニングによって組換え遺伝子を効果的に同定することができることを明らかにした。このスクリーニングをさらに行うことによって、いまだ同定されていない組換え修復の後期過程に関与する遺伝子が同定できることも期待される。また、two-hybrid 法などによる解析から、出芽酵母と分裂酵母における相同組換えの基本的なメカニズムは類似しており、高等生物まで保存した機構であることを支持する結果を示した。また、分裂酵母とヒトの類似性が見られたことから、分裂酵母がヒトの組換え修復機構を理解するための有用なモデル生物である可能性を明らかにした。このように、本研究は真核生物における組換え修復機構を解明する上で重要な知見を与えるものであり、学位に値するものと認める。