Osaka University Knowledge Archive

Title	Rad62 protein functionally and physically associates with the Smc5/Smc6 protein complex and is required for chromosome integrity and recombination repair in fission yeast
Author(s)	森川, 博史
Citation	大阪大学, 2005, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/45585
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。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

【57】

氏　　名	森　川　博　史（もり かわ ひろ ふみ）
博士の専攻分野の名称	博　士（理　学）
学　位　記　番　号	第　１９２１１　号
学位授与年月日	平成 17 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	Rad62 protein functionally and physically associates with the Smc5/Smc6 protein complex and is required for chromosome integrity and recombination repair in fission yeast **（分裂酵母 Rad62 タンパク質は機能的にも物理的にも Smc5/6 複合体と相互作用し、染色体の恒常性の維持と組換え修復に必要である）**
論　文　審　査　委　員	（主査） 教　授　品川日出夫 （副査） 教　授　篠原　　彰　　教　授　升方　久夫　　教　授　石野　良純

論　文　内　容　の　要　旨

DNA 二重鎖切断は放射線や変異原等の外的要因による損傷によって起こるだけでなく、正常な代謝中にも DNA に結合したタンパク質や活性酸素等に起因する損傷などによっても起こると考えられ、その修復は生物にとって非常に重要であると考えられる。DNA 二重鎖切断は NHEJ（非相同性末端結合）と HR（相同組換え）の二つの経路で修復されることが知られている。

相同組換えは、複製フォークの進行阻害を奉り越える機構にも機能しており、非常に興味深い。

そこで、相同組換えに関与する新規遺伝子を単離するため、*rad2* 遺伝子と合成致死になる変異株のスクリーニングを行ない、得られた変異株とその原因遺伝子の解析を行った。

本研究では *rad2* との合成致死（組換え修復の変異に特徴的な表現型）と methyl methanesulfonate（MMS）感受性を指標に選択した変異株 *rad62-1* とその原因遺伝子である *rad62* 同定を行った。*rad62-1* は UV やガンマ線に高感受性であり、DSBs の修復に欠損が見られ、かつ rhp51 と epistasis であった。*rad62* は生育に必須であり、遺伝学的に *rad60* や *smc6* や *brc1* と相互作用がある。two-hybrid 法により Rad62 と Smc5 が相互作用を示し、さらに未知のタンパク質と相互作用が見られた。さらに免疫沈降法により、Rad62 タンパク質と Smc5 との間に物理的相互作用が見られた。（two-hybrid 法で相互作用を検出した未知のタンパク質は、Nse3 という Smc5-6 の non-Smc タンパク質のひとつであると同定された。

Smc5 と Smc6 は SMC（structural maintenance of chromosome）に属しており、他の SMC タンパク質である Cohesin や Condensin と同様に non-SMC タンパク質と複合体を形成する。現在までに Nse1（non-Smc element 1）と Nse2 が Smc5-6 複合体の non-SMC タンバタ質であると報告されている。また、Rad60 とも弱く物理的相互作用を示す。この Smc5-6 複合体は染色体の維持と DNA 二重鎖切断（DSBs）の修復において必須の役割を担っている。

また *rad62-1* は複製フォークの停止からの回復に働く遺伝子、*rqh1* や *srs2* や *mus81* と合成致死を示し、核酸除去修復に働く *rad13* や *rad16* とも合成致死を示す。*rqh1* や *srs2* や *mus81* との合成致死は *rad62-1* だけではなく *nse3-3* との間にも見られ、これらの結果から Rad62 は Smc5/6 の non-Smc タンパク質として、染色体の維持に働く

とともに、Smc5/6 の複合体として相同組換えによる複製フォークの停止からの回復に働いていると考えられる。

論文審査の結果の要旨

生物にとって重要な DNA 修復機構である相同組換え修復機構への理解を深めることを目的に研究を行った。

相同組換えは、DNA 二重鎖切断の修復だけでなく、複製フォークの進行阻害を乗り越える機構にも機能しており、非常に興味深い。そこで、相同的組換え修復に関与する新規遺伝子を単離するため、*rad2* 遺伝子と合成致死になる変異株のスクリーニングを行ない、得られた変異株とその原因遺伝子の解析を行った。

本研究では *rad2* との合成致死（組換え修復の変異に特徴的な表現型）と methyl methanesulfonate（MMS）感受性を指標に選択した変異株 *rad62-1* とその原因遺伝子である *rad62* の解析と同定を行った。*rad62-1* は UV やガンマ線に高感受性であり、DNA 二重鎖切断（DSBs）の修復に欠損が見られ、かつ *rhp51* と epistasis であった。*rad62* は生育に必須であり、遺伝学的に *rad60* や *smc6* や *brc1* と相互作用がある。two-hybrid 法により Rad62 と Smc5 が相互作用を示し、さらに未知のタンパク質と相互作用が見られた。さらに免疫沈降法により、Rad62 タンパク質と Smc5 との間に物理的相互作用が見られた。さらに、two-hybrid 法で相互作用を検出した未知のタンパク質が、Nse3 という Smc5-6 の non-Smc タンパク質のひとつであると同定した。

Smc5 と Smc6 は SMC（structural maintenance of chromosome）に属しており、他の SMC タンパク質である Cohesin や Condensin と同様に non-SMC タンパク質と複合体を形成する。現在までに Nse1（non-Smc element 1）と Nse2 が Smc5-6 複合体の non-SMC タンパク質であると報告されている。また、Rad60 とも弱く物理的相互作用を示す。この Smc5-6 複合体は染色体の維持と DSBs の修復において必須の役割を担っている。

また *rad62-1* は複製フォークの停止からの回復に働く遺伝子、*rqh1* や *srs2* や *mus81* と合成致死を示し、核酸除去修復に働く *rad13* や *rad16* とも合成致死を示す。*rqh1* や *srs2* や *mus81* との合成致死は *rad62-1* だけではなく *nse3-3* との間にも見られ、これらの結果から Rad62 は Smc5/6 の non-Smc タンパク質として、染色体の維持に働くとともに、Smc5/6 の複合体として相同的組換え修復を用いた複製フォークの停止からの回復に働いていると予想される。

本研究は、*rad2* 変異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できることを明らかにした。

さらに、本研究で同定された Rad62 は第 3 の SMC である Smc5-6 複合体の non-SMC タンパク質であることを示した。*rad62* 遺伝子が生育に必須であり、相同的組換え修復において *rhp51* と同じ経路で働くことを示した。他の遺伝子との二重変異株の表現型の解析から Smc5-6 複合体が、複製フォークの崩壊からの組換え修復機構を介した再開に働いている可能性を見出した。

この結果は、停止あるいは崩壊した複製フォークの再生には相同的組換え修復を用いた DNA 修復、即ち複製と組換え修復とのカップリングが重要であるという知見を与えるものであり、学位に値するものと認める。