The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Functional overlap between RecA and MgsA in the rescue of stalled replication forks in Escherichia coli
Author(s)	柴田, 竜也
Citation	大阪大学, 2005, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/45607
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　柴　田　竜　也（しば　た　たつ　や）

博士の専攻分野の名称　博　士（理　学）

学　位　記　番　号　第　１９２１８　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　Functional overlap between RecA and MgsA in the rescue of stalled replication forks in *Escherichia coli*
（大腸菌 RecA 蛋白質と MgsA 新規蛋白質の DNA 複製フォーク再開における重複した機能とその役割）

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

大腸菌 RecA 蛋白質は、DNA 相同組換え・組換え修復・停止あるいは崩壊した複製フォークの回復等に働いている。新規 *mgsA* 遺伝子は、出芽酵母 *MGS1* のオーソログであり、高度に保存された DNA 依存の ATPase モチーフをコードしており、ゲノム安定化を維持するのに働いている。今回の研究で、私は、DNA 複製において *mgsA* と *recA* 間に機能的相互作用があることを見出した。*mgsArecA* 二重変異株は、生育が *recA* 変異株と比べて極端に遅く、viability もまた減少していた。しかし、UV による DNA 損傷に対しては、*recA* 変異株と *mgsArecA* 二重変異株の両方とも同様の感受性を示した。また、*mgsA* 及び *recA* の変異は、それぞれ DNA ポリメラーゼ I 欠損株（*polA1*）との二重変異株では致死的になり、一方で DNA ポリメラーゼⅢ・α-サブユニット変異株（*dnaE486*）の高温感受性を部分的に抑圧した。*recA* ミュータントのライブラリーを作製し、このライブラリーから *mgsArecA* 二重変異株の極端な生育の遅さを回復できない *recA* ミュータントを単離した。更に、これらのうち DNA 修復能（UV 損傷修復能）を持つミュータントの選択を試み、新規 *recA* allele、*recAS25P* 変異を単離した。この *recAS25P* 変異の欠損している機能が、MgsA 蛋白質と RecA 蛋白質のオーバーラップしている機能だと考え、*recAS25P* の機能解析を行った。その結果、*recAS25P* は DNA 修復、相同組換え、SOS mutagenesis、SOS 応答は野生型 RecA 蛋白質と同様の機能を持っていた。その一方で、*recAS25P* 変異は、*polArecA* 二重変異株の致死性や *recA* 変異株のクーママイシン（DNA ジャイレース阻害剤）の高感受性を回復できなかった。また、*dnaE486recA* 二重変異株の高温感受性の部分的な抑圧効果も *recAS25P* 変異は回復できなかった。これらの結果は、RecA 蛋白質と MgsA 蛋白質がオーバーラップした機能を持ち、停止あるいは崩壊した複製フォークの回復を行っていることを示唆する結果となり、その機能は RecA 蛋白質の DNA 修復あるいは相同組換え機能とは異なる機能であり、複製フォーク進行を維持するように働きかける新たな機能であることを発見する結果となった。

論文審査の結果の要旨

本研究では、大腸菌・新規 *mgsA* 遺伝子の機能解析より、DNA 相同組換えに中心的働きを持つ *recA* 遺伝子との遺伝学的相互作用を明らかにしている。また、*recA* ミュータントライブラリーを作製し、このライブラリーから DNA 修復能を持つが *mgsA recA* 二重変異株の生育を回復できない新規 *recA* ミュータント（*recAS25P*）を単離してきた。このミュータント解析の結果から、RecA 蛋白質と MgsA 蛋白質が、停止した複製フォークによって引き起こるゲノム不安定化をオーバーラップした機能で防いでいることを示唆するデータを得た。これらの知見は、新規 MgsA 蛋白質の機能、更には RecA 蛋白質の DNA 複製時における新たな機能を明らかにした。この大腸菌からヒトまで保存された２つの蛋白質の解析は、すべての生物におけるゲノム不安的化を抑えるメカニズムを明らかにしていく上で重要な知見であり、博士（理学）の学位論文として十分に価値があるものと認める。