



Title	Rad6-Bre1-mediated histone H2B ubiquitylation modulates the formation of double-strand breaks during meiosis
Author(s)	山下, 健太郎
Citation	大阪大学, 2004, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/45654
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、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 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	やま した けん た ろう 山 下 健 太 郎
博士の専攻分野の名称	博 士 (理 学)
学位記番号	第 1 9 0 2 1 号
学位授与年月日	平成 16 年 9 月 30 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	Rad6-Bre1-mediated histone H2B ubiquitylation modulates the formation of double-strand breaks during meiosis (Rad6-Bre1 を介したヒストン H2B のユビキチン化は減数分裂期の 2 重鎖切断形成を調節する)
論文審査委員	(主査) 教授 篠原 彰 (副査) 教授 品川日出夫 教授 升方 久夫

論 文 内 容 の 要 旨

出芽酵母 E2 ユビキチン結合酵素 Rad6/Ubc2 (以下、Rad6) は Rad18 との相互作用を介して紫外線等による DNA 損傷の修復や複製後修復に機能する。また、Rad6 はヒストン H2B のユビキチン化を介して転写のサイレンシングに関与していることも知られている。興味深いことに、*rad6* 変異株では体細胞分裂期の組換えには欠損を持たないものの、減数分裂が正常に進行せず減数分裂期組換えの頻度が低下することが遺伝的な解析から知られている。そこで、私は出芽酵母 Rad6 が減数分裂期組換えにおいて何らかの重要な機能を担っていると考え、*rad6* 欠失株の解析を行った。

出芽酵母 *rad6* 欠失株は減数分裂第一分裂で停止し、正常な孢子を形成できないことを確認した。一方、複製後修復で Rad6 と一緒に働く Rad18 の欠失株では減数分裂期の欠損を全く示さなかった。次に、減数分裂期組換えに中心的な役割を果たす RecA ホモログ Rad51 の染色体上での局在を調べたところ、野生株に比べ、*rad6* 欠失株では Rad51 foci の形成・解離が遅れることが分かった。この変異株では形成される Rad51 foci の数も野生型の 1/2 程度に低下する。DNA レベルの解析から *rad6* 欠失株では DNA 2 重鎖切断 (DSB) 導入が野生型に比べて遅れ、かつ locus 依存的に DSB 導入の頻度が低下していることが明らかになった。出芽酵母のゲノム全体でも減数分裂期特異的な DSB 導入の頻度は低下している。つまり Rad6 は複製後修復とは異なる機能で減数分裂期組換えに関わっていると考えられる。ここで Gal4BD-Spo11 を発現させることで導入される DSB については *rad6* の欠損による影響が見られなかったことから、Rad6 は DSB machinery の DNA 上への recruit もしくは安定化に関わっていると考えられる。そして、Rad6 とともにヒストン H2B のユビキチン化を行う Bre1 およびヒストン H2B のユビキチン化 site の点突然変異株でも *rad6* 欠失株と同様に DSB 導入効率の低下が見られ、Rad6-Bre1 複合体によるヒストン H2B のユビキチン化が減数分裂においては DSB machinery の DNA 上への recruit もしくは安定化に重要であると考えられる。

論文審査の結果の要旨

山下健太郎はさまざまな蛋白質にユビキチンを付加する蛋白質をコードする Rad6 の減数分裂期における機能解析を、出芽酵母をモデル系として行った所、この蛋白質が減数分裂期において、減数分裂期前 DNA 複製、相同組換え、減数第 1 分裂への移行といった複数の段階に関与する事を明らかにした。さらに、Rad6 の減数分裂期組換えでの役割を詳細に解析した結果、Rad6 が減数分裂期組換えの開始反応である DNA 2 重鎖切断 (double-strand breaks ; DSB) の効率を決めている事を明らかにした。さらに、Rad6 の下流の因子を探索した所、Rad6 と一緒に働く Bre1 並びに、Rad6-Bre1 のユビキチン化の標的であるヒストン H2B のユビキチン化が DSB 形成に関わる事を明らかに出来た。さらに、この Rad6-Bre1 によるヒストン H2B のユビキチン化が DSB 形成に関わる蛋白質複合体を呼び込む段階に関わる間接的な状況証拠を示した。

以上の結果は、減数分裂期の組換え開始反応には Rad6-Bre1 経路によるヒストン H2B のユビキチン化が重要な役割を果たす事を示している。

本論文はヒストンの末端の修飾が転写のみならず、減数分裂期の組換えに関わる事を示した点で非常に意義が大きく、この分野の進展に寄与すると考えられる。よって、博士 (理学) の学位論文として十分価値があるものと認める。