Osaka University Knowledge Archive

Title	A Novel Endonuclease MutS2 Recognizes Branched DNA Structures
Author(s)	福井, 健二
Citation	大阪大学, 2007, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/47633
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

氏　　名	福　井　健　二（ふく い けん じ）
博士の専攻分野の名称	博　士（理　学）
学　位　記　番　号	第　２０８８０　号
学位授与年月日	平成 19 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	A Novel Endonuclease MutS2 Recognizes Branched DNA Structures （新規エンドヌクレアーゼ MutS2 は分岐 DNA 構造を認識する）
論　文　審　査　委　員	（主査） 教　授　倉光　成紀 （副査） 教　授　金澤　　浩　　教　授　升方　久夫　　講　師　増井　良治

論　文　内　容　の　要　旨

MutS ファミリーは、バクテリアからヒトまでほぼ全ての生物に存在し、DNA 修復や減数分裂期の染色体分離などに関与する蛋白質群である。ヒトを含めた真核生物では複数の MutS ホモログがミスマッチ塩基対または DNA 組換え中間体を認識し、DNA 修復において重要な働きをしていると考えられている。バクテリアにおいては、ミスマッチ塩基対を認識する MutS1 に加えて、機能未知蛋白質である MutS2 が存在することが近年のゲノム解析により明らかになった。MutS2 は MutS1 のミスマッチ認識ドメインが無くなっており、かわりに C 末端に、多くの生物の機能未知蛋白質の間で高度に保存された配列が存在する。この配列は何らかの新しい機能を持ったドメインを形成していると予測され、Small MutS-Related（Smr）ドメインと呼ばれている。本研究では、高度好熱菌 MutS2（ttMutS2）について詳しい分子機能解析を行った。

ttMutS2 のドメイン構造を知るために、限定分解を行ったところ、N 末端側 60 kDa の領域と C 末側 10～20 kDa の領域が安定な構造をとっていることが示唆された。そこで、それらに相当する変異体を作製し、各ドメインの生化学的機能を調べた。N 末側 60 kDa に相当する変異体（N60-ttMutS2）は、ダイマー形成能、ATPase 活性、DNA 結合能など、MutS ファミリーに共通の基本的な性質を備えていた。しかし、MutS1 と異なり、ミスマッチ塩基対に対する親和性は示さず、かわりに分岐を持つ DNA 構造に強く結合した。この結果は、MutS2 がミスマッチ修復系ではなく、DNA 組換えに関与することを示唆する。そこで様々な DNA 組換え中間体を模した構造に対する親和性を調べたところ、初期段階の中間体とされる D-loop 構造を最も強く認識することが分かった。一方、MutS2 の C 末端 10 kDa 領域に相当する変異体（ttSmr）は、ダイマー形成能、DNA 結合能に加えて、ヌクレアーゼ活性を有することが分かった。また、このヌクレアーゼ活性には Glu-677 が重要であることを部位特異的変異導入により確かめた。Glu-677 に相当する残基は、バクテリアからヒトまでほぼ全ての Smr ドメインで保存されていた。さらに、大腸菌 Smr の活性測定を行ったところ、ttSmr と全く同じヌクレアーゼ活性を持つことが分かった。これらの結果から、生物界に広く存在する Smr ドメインは新規のヌクレアーゼドメインであると考えられる。最後に、ttMutS2 全長のヌクレアーゼ活性の基質特異性を調べたところ、特に D-loop 構造を好んで切断することが分かった。以上の結果から、MutS2 は組換え反応の初期段階の中間体を認識して切断し、組換え反応を阻止すると考えられる。

論文審査の結果の要旨

ミスマッチ DNA の修復に関与する MutS ファミリーのタンパク質群は、バクテリアからヒトまでほぼ全ての生物に存在する。そのホモログの高度好熱菌 MutS2（ttMutS2）蛋白質が、DNA 結合能、ダイマー形成能、ヌクレアーゼ活性などを持つことを明らかにした。ttMutS2 の N 末端側 60 kDa は、二量体形成能、ATPase 活性、DNA 結合能など、MutS ファミリーに共通の基本的な性質を備えているとともに、D-loop 構造分岐を持つ DNA などにも強く結合し、MutS2 が DNA 組換えに関与することを示唆した。また、MutS2 の C 末端側 10 kDa 領域は、二量体形成能、DNA 結合能に加えて、ヌクレアーゼ活性を有することも明らかにした。

よって、本論文は博士（理学）の学位論文として十分価値あるものと認める。