

Title	分裂酵母におけるDNA相同組換え反応の分子機構
Author(s)	黒川, 裕美子
Citation	大阪大学, 2008, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/49554">https://hdl.handle.net/11094/49554</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	黒川裕美子
博士の専攻分野の名称	博士(工学)
学位記番号	第22367号
学位授与年月日	平成20年5月20日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 工学研究科応用生物学専攻
学位論文名	分裂酵母におけるDNA相同組換え反応の分子機構
論文審査委員	(主査) 教授 原島 俊 (副査) 教授 福井 希一 教授 福崎英一郎 横浜市立大学大学院総合理学研究科教授 岩崎 博史 教授 小林 昭雄 教授 大竹 久夫 教授 金谷 茂則 教授 清水 浩 教授 野地 博行 教授 仁平 卓也

## 論文審査の結果の要旨

論文では、分裂酵母をモデルに、DNA相同組換え反応の分子機構について述べている。DNA相同組換えは、リコンビナーゼと呼ばれるタンパク質によって直接触媒されるDNA鎖交換反応であるが、実際は様々な補助タンパク質に依存している。本論文では、補助タンパク質であるメディエーターの役割に着目し、これを明らかにすることで、DNA相同組換え反応の分子機構を理解することを試みている。新規の組換えタンパク質Swi5-Sfr1複合体が、メディエーターとしてリコンビナーゼによるDNA鎖交換反応を促進することを生化学的に証明し、もう一つのメディエーターRad22と共役した試験管内DNA鎖交換反応を構築することで、リコンビナーゼの活性化について明らかにしている。

以上のように、本論文は、相同組換え機構の中心的反応であるリコンビナーゼによる鎖交換反応の分子メカニズムの解明に有益な知見を明らかにしており、将来的に医学分野だけでなく応用生物学の発展にも寄与するところが大きい。

よって本論文は博士論文として価値あるものと認める。

## 論文内容の要旨

本論文は、分裂酵母のDNA相同組換え反応の分子機構についての研究をまとめたものであり、緒論、本論2章、総括からなる。

緒論では、DNA相同組換え機構の生物学的重要性について触れ、反応制御における分子機構の解析意義について記述した。

第1章では、新規の組換えタンパク質である分裂酵母Swi5-Sfr1複合体の、相同組換え反応における効果、機能について検討している。Swi5-Sfr1複合体の生化学的機能を明らかにするために、大腸菌を用いたSwi5-Sfr1複合体の発現・精製を行なった。in vitroでの免疫沈降実験により、DNA相同組換え反応において中心的役割を担うタンパク質であるRhp51、Dmc1リコンビナーゼのそれぞれに、Swi5-Sfr1複合体が直接結合することを明らかにした。試験管内DNA鎖交換反応系を構築して解析した結果、Swi5-Sfr1が、Rhp51依存的DNA鎖交換反応とDmc1依存的DNA鎖交換反応の両方を促進させるメディエーターであることがわかった。

第2章では、Swi5-Sfr1依存的Rhp51組換え経路に必要とされる2種類のメディエーター(Rad22とSwi5-Sfr1)の機能差異を明らかにするために、Rad22を加えたSwi5-Sfr1依存的Rhp51組換え経路の試験管内再構成系を構築して解析した。この系を用いて解析した結果、Rad22とSwi5-Sfr1の2種類のメディエーターがそれぞれ異なった役割を分担して機能することで、単鎖DNA上のRPAタンパク質が効率良く除去され、活性型Rhp51ヌクレオプロテインフィラメントが形成されることがわかった。

最後に、以上で得られた知見を総括し、分裂酵母Rhp51依存的なDNA相同組換え反応の初期ステップであるRhp51ヌクレオプロテインフィラメント形成と、それに続く相同鎖検索、鎖交換反応までの反応メカニズムについて記述している。