

氏名	よこ 横	やま 山	み 美	か 佳
学位(専攻分野)	博士 (生命科学)			
学位記番号	生博第120号			
学位授与の日付	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			
研究科・専攻	生命科学研究科高次生命科学専攻			
学位論文題目	複製時のDNA修復に関与する分裂酵母新規遺伝子 <i>mus7⁺</i> の解析			

論文調査委員 (主査) 教授 杉田昌彦 教授 眞貝洋一 教授 石川冬木

論文内容の要旨

遺伝情報を担うDNAは、放射線や環境中の突然変異原さらには代謝の過程で生じる活性酸素などにより絶えず傷つけられている。これらの損傷は、複製や転写などDNAの本質に関わる機能を直接阻害して細胞死を引き起こしたり、突然変異の誘発を介して遺伝情報を変化させ、細胞機能にさまざまな影響を及ぼしうる。このように有害なDNA損傷を効率良く修復し、遺伝情報を安定に維持するために、ヒトをはじめとしたすべての生物は多様な修復機構を持つ。しかしながら万一、鋳型上のDNA損傷を取りこぼしたままでDNA複製が起こると、複製装置であるDNAポリメラーゼは鋳型DNAの損傷部位で正確な塩基対合を形成できないためDNA損傷に起因した突然変異が誘発されたり、複製フォークの進行が阻害されて複製フォークの停止や崩壊が起こりDNAの片側に二本鎖切断が生じたりする。このような複製時のDNA損傷を正確に修復して複製を再スタートさせることは、細胞が遺伝情報を正確に維持して生き残っていくために非常に重要である。

申請者は本研究で、分裂酵母においてこのような複製時のDNA損傷にかかわる新規遺伝子 *mus7⁺* の同定と機能解析を行った。*mus7⁺* 遺伝子の破壊株 $\Delta mus7$ 株は、通常の培養下で生育の遅延や細胞形態の異常が見られた。また、複製時にDNA二本鎖切断を引き起こすと考えられている薬剤であるメチルメタンスルホン酸(MMS)やカンプトテシンに対する感受性が強いものに対して、紫外線やX線にはほとんど感受性がない。このことから、複製時に生じるDNA二本鎖切断の修復と密接な関係をもつのではないかと考えられた。実際にエピスタシス解析により *mus7⁺* は、S期チェックポイントの制御を受けて複製時のDNA二本鎖切断の修復に働くことが知られる *mus81⁺* と部分的に同じ経路で働くことが示唆された。また、これらの破壊株では、MMS処理によって生じるDNA二本鎖切断の修復に欠陥があり、相同組換えのメディエータータンパク質Rad22(RAD52ホモログ)のフォーカスがS期からG2期に自然発生的に蓄積していた。しかしながら、 $\Delta mus7$ 株ではRad22フォーカスの増加にもかかわらず遺伝子変換型の組換え頻度の減少が見られることより、*Mus7* が遺伝子変換型の組換えを促進することによって複製時のDNA二本鎖切断の修復に働いていることが示唆された。細胞内で実際に *Mus7* タンパク質がどのように働いているのかといった詳しい分子機構はまだわかっていないが、本論文では、これまでの実験結果や最近のDNA修復やチェックポイントなどの知見をふまえて、分裂酵母の新規遺伝子 *mus7⁺* の機能についての考察を述べる。

論文審査の結果の要旨

DNAは紫外線や放射線、種々の変異原物質などによりつねに損傷を受けており、その損傷修復は遺伝情報の維持にとって非常に重要である。DNA複製時にDNA複製フォークがDNA損傷に遭遇すると複製フォークの停止、崩壊、それともなうDNA二本鎖切断(DSB)などが起こる。細胞はこのようなDNA複製時の損傷を修復する機構をもち、この修復機構がゲノム安定維持にとって重要なことが知られている。

本研究はこのDNA複製時の損傷修復に関わる分裂酵母新規遺伝子 *mus7⁺* について解析をおこなったものである。アカ

パンカビ *mus-7* 変異株は DSB を誘発するガンマ線に感受性を示さないが DNA 複製時に DSB を引き起こすメチルメタンスルホン酸 (MMS) に感受性を示す変異株として単離されていた。申請者はこのアカパンカビ *mus-7* 変異株の原因遺伝子をクローニングした。さらに、そのホモログが分裂酵母に存在することを発見し *mus7⁺* と名付け解析をおこなった。*mus7* 破壊株を作成したところ、その表現形から Mus7 が DNA 複製時の DNA 損傷修復に関与することが示唆された。さらに申請者は Mus7 が複数ある DNA 複製時の損傷修復経路のどの経路で働くかを検討するために、*mus7* 破壊株の詳細な分子遺伝学的解析をおこなった。その結果、Mus7 が S 期チェックポイントの制御を受けて複製時 DSB 修復にかかわる Mus81 と部分的に同じ経路で機能すること、特に相同組換えに依存した修復経路で機能することを示した。

DNA 複製時の DNA 損傷修復機構はその重要さにもかかわらず、どのような因子が関与するかも含め未知の部分が多い。本研究はこの DNA 複製時の損傷修復での興味深い新規遺伝子の報告であり、今後の研究の発展に寄与すると考えられる。

以上より本論文は博士 (生命科学) の学位論文として価値あるものと認めた。

また、平成19年1月23日論文公聴会を開催し、論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果合格と認めた。