

氏名	向原隆文
授与した学位	博士
専攻分野の名称	理学
学位授与番号	博甲第1614号
学位授与の日付	平成9年3月25日
学位授与の要件	自然科学研究科生物資源科学専攻 (学位規則第4条第1項該当)
学位論文題目	Mechanism for Deletion Formation Depending on Direct Repeats between Homeologous Sequences and between Nonhomologous Sequences: Involvement of the <i>Escherichia coli</i> Single-Stranded DNA-Binding Protein(SSB) 類似相同(ホメオロガス)及び非相同(ノンホモロガス) DNA間の同方向反復配列に依存する欠失形成の分子機構 ：大腸菌一本鎖DNA結合蛋白質SSBの機能
論文審査委員	教授 榎本 雅敏 教授 香川 弘昭 教授 中島 秀明 教授 白石 友紀 教授 土屋 友房

学位論文内容の要旨

塩基配列がほぼ相同(ホモロガス)、類似相同(ホメオロガス)、非相同(ノンホモロガス)の3種類のDNA配列間で生ずる欠失を特異的に検出する系を、2種のフラジェリン遺伝子とミニFプラスミドを用いて構築し、欠失形成の分子機構を種々の大腸菌変異株内で解析した。3種の検出系全てにおいて、欠失はRecA非依存的に生じ、同方向反復性の相同配列の長さに依存し、最長及び次に長い配列が欠失のホットスポットになることを明らかにした。一本鎖DNA結合蛋白質(SSB)の変異は、全ての系で欠失頻度を数十から数百倍上昇させた。SSB-3変異は、類似相同DNA間で生じる欠失のホットスポット特性を変化させ、他の反復配列間での欠失を増加させるが、非相同DNA配列間の欠失特性に影響を与えない。類似相同DNA間の欠失は多数の非連続的なヘテロデュプレックスを含む1種類のミスアラインメントに起因し、非相同DNA間のそれは数種類のミスアラインメントに起因する。また、正常なSSBはエネルギー順位の低いヘテロデュプレックスを順次分解し、欠失形成を抑制することを提起した。SSBは3'→5'エキソヌクレース及び/またはヘリケースと協力して機能すると推定された。

論文審査結果の要旨

本論文は、遺伝子分化やゲノム再編成の原動力となる遺伝的欠失の分子機構に関する研究をまとめたものである。塩基配列がほぼ相同(ホモロガス)、類似相同(ホメオロガス)、非相同(ノンホモロガス)の3種類のDNA配列間で生ずる欠失を特異的に検出する系を、2種のフラジェリン遺伝子とミニFプラスミドを用いて構築し、欠失形成の分子機構を種々の大腸菌変異株内で解析した。3種の検出系全てにおいて、欠失はRecA蛋白質に依存しないが、同方向反復配列の長さに依存して生ずること、そして最長および次長の配列が欠失のホットスポットになることを明らかにした。一本鎖DNA結合蛋白質(SSB)の変異は、全ての系で欠失頻度を数十から数百倍上昇させる。SSB-3変異は、類似相同DNA間で生ずる欠失のホットスポット特性を変化させ、他の反復配列間での欠失を増加させるが、非相同DNA配列間のホットスポット特性に影響を与えない。類似相同DNA間の欠失は多数の非連続的なヘテロ二重鎖を含む1種類のミスアラインメントに起因し、非相同DNA間のそれは数種類のミスアラインメントに起因する。正常なSSBはエネルギー順位の低いヘテロ二重鎖を順次分解し、欠失形成を抑制することを提起している。SSBは3'→5'エキソヌクレース及び(又は)ヘリケースと協力して機能すると推定された。本研究では、これまで系統的研究が行なわれていなかった類似相同及び非相同DNA間の欠失機構を明らかにし、本質的違いがミスアラインメントの方法にあることを証明した。又、SSB蛋白質がミスアラインメントによって生じたヘテロ二重鎖を分解するという新しい知見を見いだした。本論文は学位に値すると結論する。