

高度好熱菌の DNA 相同組換え:組換え修復を中心に

DNA recombinational repair of *Thermus thermophilus* HB8

美川 務^{1,2,3}, 本多賢吉³, 井上 仁³, 増田ときは³, 伊藤 隆⁴, 柴田武彦^{1,2,3}
Tsutomu Mikawa^{1,2,3}, Masayoshi Honda³, Jin Inoue³, Tokiha Masuda³, Yutaka Ito⁴,
Takehiko Shibata^{1,2,3}

(¹理研・中央研, ²理研・播磨研, ³横浜市大, ⁴首都大)

(¹RIKEN / DRI, ²RIKEN / Spring-8, ³Yokohama City Univ., ⁴Tokyo Metropolitan Univ.)

e-mail: mikawa@riken.jp

近年、鋳型の存在しない DNA 損傷(二本鎖切断, 単鎖 DNA 上の傷害)の修復に DNA 相同組換えが重要であることがわかってきた。この組換え修復は、ヒトでは染色体を安定に維持し発癌や老化を防ぐのに必須の機構であると考えられ、注目されている。しかしながら、この現象には数多くの遺伝子群が協同して働く上、修復経路が複数存在するため遺伝学的解析が非常に困難である。現在の所、そこに働く蛋白質が明確に分かっている経路は原核生物の RecF 経路のみであり、その機構には高等真核生物との共通点も多い。通常、DNA 損傷の結果生じた単鎖 DNA 領域は単鎖 DNA 結合蛋白質(真核生物では RPA, 原核生物では SSB)によって保護される。そして、この状態では実際に組換え反応を行う蛋白質(真核生物では Rad51, 原核生物では RecA)は機能しない。原核生物の RecF 経路では RecF, RecO, RecR の 3 種の蛋白質が単鎖 DNA 上に結合した SSB に働きかけ、最終的に RecA による DNA 組換え修復を可能にする。しかしながら、その過程については明らかでない部分が多い。

そこで我々は、高度好熱菌の RecF 経路に働く蛋白質群 RecA, RecF, RecO, RecR, SSB を単離精製し、その機能解析、変異体解析、相互作用解析、構造解析を通じて DNA 組換え修復機構を詳細に解析してきた [1]。その結果、①RecR は RecF と RecO に相互作用すること、②RecO は RecR と SSB に相互作用すること、③RecOR 複合体は RecA の活性を促進すること、④RecFR 複合体は RecA の活性を抑制すること、⑤RecO のみでは SSB を単鎖 DNA 上から解離させられないこと、⑥RecF, RecO, RecR が溶液中共存する場合は RecFR 複合体が主に形成されることを示してきた。さらに、NMR 分光法と生化学的手法を用いて、⑦RecR 上の RecO, RecF の相互作用部位を明らかにしてきた。これらの知見を基に、我々は次の組換え修復モデルを提唱している。1) DNA 損傷の結果生じた単鎖 DNA 部分に SSB が結合する。2) RecO が SSB と相互作用し、SSB を単鎖 DNA から解離させやすい状態にする。3) RecFR が二本鎖 DNA と単鎖 DNA の境界(ギャップ領域)に結合する。4) RecR の RecO に対する相互作用により SSB が単鎖 DNA から解離しやすい状態になる。5) RecA がギャップ領域に存在する RecOR 複合体を認識し、SSB の解離を伴いながら核蛋白質フィラメントを形成する。6) RecA フィラメントの相同組換え反応によって傷害部位が修復される。これら、高度好熱菌の DNA 組換え修復を中心に、高度好熱菌の DNA 相同組換えについて発表する。

Reference

[1] Honda, M., Inoue, J., Yoshimasu, M., Ito, Y., Shibata, T. and Mikawa, T. "Identification of the RecR toprim domain as the binding site for both RecF and RecO: A role of RecR in RecFOR assembly at dsDNA-ssDNA junctions", (2006) *J. Biol. Chem.* **281**, 18549-18559