

所属 (主指導教 官)	バイオサイエンス研究科 遺伝子教育研究センター (河野 憲二 教授)		
氏名	藤岡 陽子	提出	平成 14 年 1 月 8 日
題目	Identification of a novel non-SMC component of the SMC5/SMC6 complex involved in DNA repair. (出芽酵母における新規 DNA 修復関連 SMC5/SMC6 複合体の同定と解析)		
要旨 <p>The structural maintenance of chromosomes (SMC) protein family plays a central role in chromosome organization and dynamics. Compared with SMC2/SMC4 and SMC1/SMC3 complexes known as condensin and cohesin, respectively, SMC5 and SMC6 are less well characterized. So far, no non-SMC proteins associated with the SMC5/SMC6 complex have been identified. Here, we report that <i>NSE1</i> from <i>Saccharomyces cerevisiae</i> encodes a non-SMC component of the SMC5/SMC6 complex. Nse1p was coimmunoprecipitated with SMC6 and SMC5 from <i>S. cerevisiae</i> cell lysate. Furthermore Nse1p was coeluted with SMC5/SMC6 heterodimer corresponding to 2-3MDa on gel filtration chromatography of the cell lysate. These results strongly suggest that Nse1p is a novel non-SMC component of SMC5/SMC6 complex. Nse1p is a nuclear protein, and <i>nse1</i> mutants showed high sensitivity to DNA-damaging treatments. These results are consistent with the reported features of <i>S. pombe</i> SMC6 gene, <i>rad18</i>, which is thought to be involved in recombinational DNA repair. Nse1p was also essential for cell proliferation as are SMC5 and SMC6. As a terminal phenotype, a conditional lethal <i>nse1</i> mutant exhibited abnormal cellular morphologies suggesting aberrant mitosis. We concluded that Nse1p and SMC5/SMC6 heterodimer form a high molecular mass complex, which is conserved in eukaryotes and required for both DNA repair and proliferation.</p>			

論文審査結果の要旨

申請者氏名 藤岡 陽子

出芽酵母の*NSE1*(YLR007w)遺伝子は、細胞増殖に必須な遺伝子として本研究室で取得されたものであるが、その生理機能に関しては全くわかっていなかった。データベースを検索したところ、ヒト、マウスにホモログが認められることから、真核生物に幅広く保存され増殖に必須な重要な生理機能をなう分子であることが予想された。本研究は、Nse1pが複合体形成をしていることに着目し、その複合体を解析することにより*NSE1*の生理機能を初めて明らかにしたものである。

*NSE1*遺伝子をHAタグを付けた*NSE1*-HA遺伝子におきかえ細胞を増殖させ、細胞抽出液を抗HA抗体により免疫沈降した。電気泳動をしたところ、Nse1-HAに加え、分子量約130kDaの2つのタンパク質がNse1-HAと共沈してきた。この2つの未同定タンパク質をゲルから抽出し、そのペプチド断片をMALDI-TOFにより解析したところ、出芽酵母のSMC5(YOL034w)とSMC6(RHC18)であることがわかった。免疫共沈降実験により、Nse1pがこれらの分子と実際に複合体を形成していること、その複合体はゲル濾過により2-3MDaに相当する巨大複合体であることが明らかとなった。この結果からNse1pはSMC5-SMC6複合体に属するnon-SMCタンパク質の1つであることが示された。次に*NSE1*の*in vivo*での生理機能を明らかにする目的で種々の変異株を作製したところ、これらの株のいくつかは紫外線、ガンマ線、アルキル化剤などのDNA損傷に対し高感受性を示した。さらに条件致死変異株を作製したところ、制限条件下で複数の出芽形成や、核の形態異常を起こすことが観察された。これらの表現形質は、分裂酵母(*S. pombe*)のSMC6(*rad18*)やSMC5(*spr18*)変異株が示す表現形質とよく一致した。これらの結果から、出芽酵母の*NSE1*は、SMC5-SMC6複合体のnon-SMCタンパク質の1つであり、この複合体はDNA修復と細胞増殖の両方に必要であることが明らかとなった。

以上のように、本研究は、出芽酵母の機能未知遺伝子*NSE1*の遺伝子産物が、細胞増殖とDNA修復に必須なSMC5-SMC6複合体のnon-SMCタンパク質であることを世界で初めて明らかにしたものであり、学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって審査委員一同は、本論文が博士(バイオサイエンス)の学位論文として価値あるものと認めた。