

RELEASE

2026 年 9 月 15 日

RecA–RecN 相互作用の種特異的な共進化は DNA 二本鎖切断修復を制御する

ポイント

- DNA 二本鎖切断 (DSB) を修復する DNA 相同組換え機構の分子メカニズムを明らかにしました。
- RecA–RecN 間の機能的相互作用が生物種ごとに最適化されていることが示されました。
- 大腸菌において機能性が回復する機能獲得型緑膿菌 RecN 変異体を同定しました。
- 効率的な DSB 修復を行うために RecA–RecN 間の機能的な相互作用ドメインが生物種ごとに共進化していることを明らかにしました。

研究の概要

DNA 二本鎖切断 (DSB) は最も重篤な DNA 損傷の一つであり、適切に修復されない場合は突然変異や細胞死を引き起こし、ヒトでは発がんの原因となっています。細菌では DNA 相同組換えが DSB 修復において重要な役割を果たしており、RecA リコンビナーゼはその中核となるタンパク質であり、RecN は SMC (染色体構造維持) ファミリーに属するタンパク質として RecA と協調して DSB 修復を行います。しかし、両者がどのように相互作用し、その相互作用が生物種間でどの程度保存されているかは不明でした。本研究では、異なる生物種間での機能的相補性に着目し、緑膿菌由来の RecA (paRecA) および RecN (paRecN) を大腸菌で発現させた場合の DNA 損傷剤マイトマイシン C (MMC) に対する耐性能を指標として解析を行いました。その結果、paRecA または paRecN を単独で発現させた場合は大腸菌の DNA 修復能を十分に回復できなかった一方、両者を同時に発現させると野生型レベルの修復能を示すことがわかりました。このことは、RecA と RecN の間には生物種特異的な機能的適合性が存在することを示しています。さらに、大腸菌 RecA(ecRecA)との組み合わせで DNA 修復活性を回復する paRecN の機能獲得型変異体を探索し、I73T および R453H 変異を同定しました。これらの変異体は ecRecA との適合性を獲得する一方、本来のパートナーである paRecA との機能的相互作用を失っていました。これらの変異体を発現する大腸菌の蛍光顕微鏡観察では、両変異体は DNA 損傷時に核様体への局在が増加しており、生化学的解析からも ecRecA との相互作用が増強されていることが示されました。以上の結果から、RecA と RecN の相互作用領域は生物種ごとに DSB 修復を効率的に行うように最適化されており、両タンパク質には共進化の関係があることが明らかになりました。本研究は、タンパク質間相互作用の種特異性が DNA 修復効率に大きく影響することを明らかにするとともに、タンパク

質共進化を利用したスクリーニングが相互作用に重要なアミノ酸残基の同定に有効であることを示しました。

本研究成果は文部科学省科学研究費補助金の支援を受けて行われ、2026年5月28日に PLOS Genetics 誌のオンライン版に掲載されました。また、本発表は、学習院大学国際論文助成事業より掲載費の助成を受けています。

研究の背景

DNA 二本鎖切断 (DSB) は、放射線や化学物質、DNA 複製異常などによって生じる最も重篤な DNA 損傷の一つです。DSB が適切に修復されない場合、染色体再編成や突然変異の蓄積、さらには細胞死を引き起こします。そのため、生物は DSB を効率的かつ正確に修復する機構を進化させてきました。細菌では、相同組換え修復 (HR) が主要な DSB 修復経路として機能しており、その中心因子である RecA は損傷 DNA 上でフィラメントを形成し、相同配列探索や DNA 鎖交換反応を促進します。一方、RecN は SMC (染色体構造維持) ファミリーに属する ATPase であり、DSB が生じた損傷部位へ集積して DNA 末端同士を近接させたり、DSB が生じた DNA 鎖と組換えの際に鋳型となる相同鎖を繋ぐはたらきを持つため、RecA 依存的な修復反応の促進に関与していると考えられています。近年の研究から、RecN は RecA と直接相互作用することが示されていますが、RecA—RecN 間の相互作用領域がどこにあり、DSB 修復にどのように関与しているのかなど、その分子機構は明らかになっていませんでした。

そこで本研究では、大腸菌 (*Escherichia coli*) と緑膿菌 (*Pseudomonas aeruginosa*) の RecA および RecN に着目し、異種由来タンパク質間の機能的相補性を利用して RecA—RecN 相互作用の種特異性を解析しました。さらに、異種環境下で機能を回復する RecN 変異体を取得することで、RecA との機能的相互作用に重要なアミノ酸残基の同定と、RecA—RecN 相互作用の進化的適応機構の解明を目指しました。

研究の内容

大腸菌と緑膿菌はともにグラム陰性細菌^{*1}に属するものの、多くのタンパク質のアミノ酸配列相同性は 40~90% 程度と幅があり、異種由来タンパク質が宿主内で機能する場合としない場合が存在します。そこで本研究では、大腸菌 *recA* 欠損株および *recN* 欠損株に緑膿菌由来の *paRecA* および *paRecN* を発現させ、DNA 損傷剤マイトマイシン C (MMC) に対する耐性を指標として DNA 修復活性を評価しました。その結果、*paRecA* および *paRecN* はいずれも単独では大腸菌の DNA 修復能を十分に回復できませんでした。しかしながら、*recA recN* 二重欠損株において両者を同時発現させると、MMC 耐性が大腸菌野生型のレベルまで回復しました。この結果から、RecA と RecN の機能的相互作用には生物種特異性が存在し、同一生物種由来の組み合わせにおいて最も効率的な DSB 修復が行われることが示唆されました。

RecA は DNA 組換え修復 (HR) の中心因子であるとともに、SOS 応答^{*2}と呼ばれる SOS 遺伝子群の発現誘導においても必須の役割を果たしています。そこで、*paRecA* の大腸菌における機能欠損の原因を明らかにするため、SOS 遺伝子の発現レベルを解析しました。その結果、*paRecA* は *ecRecA* と同程度の SOS 誘導能を持つことが示されました。一方、*paRecA* を発現する大腸菌で

は、MMC 処理後に異常な核様体凝縮や無核細胞の増加が観察され、相同組換え中間体の解消に異常が生じていました。このことから、paRecA は SOS 応答において正常な機能を保持している一方で、HR による DSB 修復機能に欠損があることがわかりました。

これらの結果から、RecA—RecN 間の機能的相互作用が HR による DSB 修復に重要であり、さらにそれは生物種ごとに最適化されていることが示唆されました。そこで、この可能性をさらに検証するため、ecRecA と paRecN の組み合わせで DNA 修復活性を回復するような paRecN 機能獲得型変異体が得られれば機能的相互作用に重要なアミノ酸残基を同定できるのではないかと考え、paRecN 変異体のスクリーニングを行いました。その結果、7 種類の機能獲得型変異体の単離に成功し、そのうち、RecN の立体構造解析から近接した位置に存在する paRecN^{I73T} および paRecN^{R453H} 変異体について、さらに詳細に解析しました。その結果、これらの変異体は ecRecA との組み合わせでは高い DNA 修復活性を示した一方で、本来のパートナーである paRecA との組み合わせでは DNA 修復能が低下することがわかりました。この結果は、paRecN 変異体が ecRecA との適合性を獲得した一方で、paRecN との適合性を失うトレードオフが生じたことを示しています（図 1）。

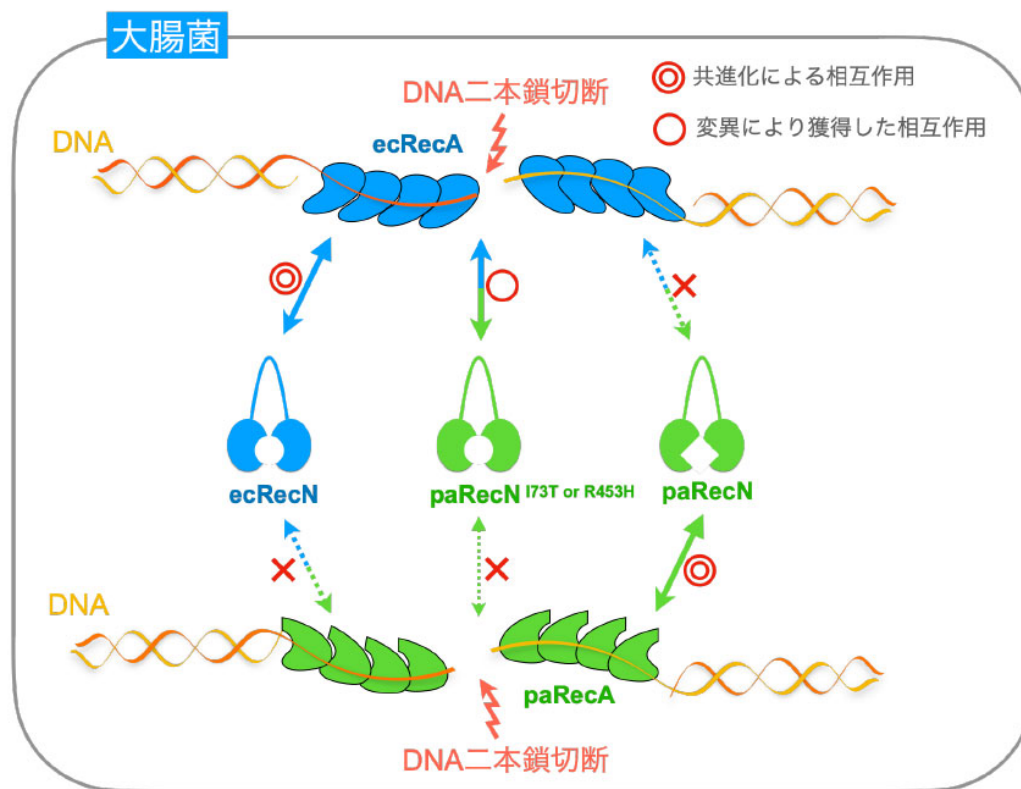


図1 RecA–RecNの共進化と変異体におけるトレードオフ

大腸菌RecN (ecRecN) とRecA (ecRecA) は、共進化した相互作用領域を介してDSB部位ヘリクルートされる。一方、緑膿菌由来RecN (paRecN) は paRecA との種特異的な相互作用に最適化されているため、大腸菌内では機能しない。しかし、機能獲得型paRecN変異体 (I73T、R453H) はecRecA との適合性を獲得しDSB部位ヘリクルートされるが、paRecA との適合性を失う。

さらに、paRecN 変異体の機能について調べるため、GFP^{※3}との融合タンパク質を用いて細胞内局在を蛍光顕微鏡を用いて解析しました。その結果、野生型 paRecN は DNA 損傷時に核様体への局在をほとんど示さなかったのに対し、paRecN^{I73T} および paRecN^{R453H} では DNA 損傷依存的な核様体局在が顕著に増加しました。また、精製タンパク質を用いた生化学的解析から、paRecN^{I73T} および paRecN^{R453H} は野生型 paRecN と比較して ecRecA との相互作用が増強していることが明らかとなりました。以上の結果から、I73T および R453H 変異は RecN の損傷部位への集積能力と ecRecA との機能的相互作用を向上させることで、大腸菌における DNA 修復活性を回復させることが示されました。

今後の展開

本研究により、RecA と RecN の機能的相互作用は単に保存されたタンパク質間相互作用ではなく、生物種ごとに最適化された関係であることが明らかとなりました。特に、paRecN^{I73T} および paRecN^{R453H} 変異体が ecRecA との適合性を獲得する一方で paRecA との適合性を失ったことは、RecA–RecN 間の結合領域が共進化によって形成されてきたことを強く示唆しています。また、変異体では損傷部位への局在性と RecA との相互作用がともに向上しており、RecN の DNA 修復機能には共進化した領域が重要であることが示されました。今後は、残りの機能獲得型変異体についても解析を進めるとともに、RecN が RecA の ATPase 活性や組換え反応そのものに与える影響を検討することで、RecA–RecN 協調機構の詳細な分子基盤を解明したいと考えています。さらに、本研究で確立した異種間相補性を利用した解析手法は、他のタンパク質複合体における共進化残基の同定にも応用できると期待されます。

発表者

井上 瑞貴（学習院大学自然科学研究科生命科学専攻 修士課程(研究当時)）

赤沼 元気（城西大学理学部化学生命科学科 准教授）

林 匡史（学習院大学理学部生命科学科 助教）

菱田 卓（学習院大学理学部生命科学科 教授）

論文情報

論文名：Species-specific coevolution of RecA–RecN interfaces governs DNA double-strand break repair in *Escherichia coli*

雑誌：PLOS Genetics

著者名：井上瑞貴、赤沼元気、林匡史、菱田卓

URL：<https://journals.plos.org/plosgenetics/article?id=10.1371/journal.pgen.1012169>

DOI：10.1371/journal.pgen.1012169

用語解説

※1 **グラム陰性細菌**：薄いペプチドグリカン層と外膜を持つ細菌の総称。グラム染色では赤色またはピンク色に染色される。

※2 **SOS 応答** : DNA 損傷時に誘導される遺伝子発現機構。活性化した RecA が LexA リプレッサーによる転写抑制を解除するため、DNA 修復に関わる SOS 遺伝子群の発現が誘導される。

※3 **GFP** : GFP は、オワンクラゲから単離された蛍光を発するタンパク質。GFP は緑の蛍光 (509nm) を発する。

研究に関する問い合わせ

学習院大学理学部生命科学科 分子生物学的研究室

教授 菱田 卓 (ひしだ たかし)

E-mail : takashi.hishida@gakushuin.ac.jp

報道に関する問い合わせ

学習院大学学長室広報センター

Tel : 03-5992-1008

E-mail : koho-off@gakushuin.ac.jp