

京都大学	博士 (医学)	氏 名	卿 勇
論文題目	GEMIN2 promotes accumulation of RAD51 at double-strand breaks in homologous recombination (GEMIN2 は、相同組換えにおいて DNA 二重鎖切断への RAD51 タンパク質の蓄積を促進する)		
(論文内容の要旨) <p>RAD51 タンパク分子は、相同組換え修復経路の中心的な因子であり、DNA 複製中に生じる DNA 損傷を修復することで細胞増殖に必須の役割を果たす。相同組換えは、がんの放射線やシスプラチン等の化学療法によって生じた DNA 損傷を修復するのに重要な働きをする。ゆえに、RAD51 制御機序の解明は、抗がん治療の開発に有用である。DNA 二重鎖切断が生じた時、相同組換え修復経路は、以下のような 3 ステップの素過程で DNA 修復を開始する：(1) DNA 二重鎖切断の末端の削り込み反応による 3' 突出単鎖 DNA の出現、(2) RAD51 タンパク分子の 3' 単鎖 DNA への重合、(3) RAD51 が触媒する、損傷した DNA とその相同配列 DNA との対合と鎖交換反応。(2) のステップである DNA 損傷への RAD51 の重合は、BRCA1 と BRCA2 を含む RAD51 メディエーターにより厳密に制御される。</p> <p>本研究では、RAD51 と相互作用する因子を yeast two hybrid スクリーニングで探索した結果発見された、GEMIN2 タンパク分子の機能解析を行った。GEMIN2 は SMN 複合体の構成要素としてスプライセオソームの生合成経路に関与する。共同研究者による生化学実験によって、GEMIN2 は、RAD51-DNA 複合体の形成を増強し、その結果、相同鎖交換反応とを促進することがわかった。すなわち、GEMIN2 は、RNA スプライシングの他に、相同 DNA 組換えにも機能することが示唆された。</p> <p>GEMIN2 の機能解析のため、ニワトリ B リンパ細胞株 (DT40) を用いて、GEMIN2 遺伝子破壊を行った。その結果、GEMIN2 は細胞増殖に必須であることがわかった。そこで、培地にテトラサイクリンを添加した時のみ条件的に GEMIN2 を破壊できる細胞を作製した。この細胞を用いて GEMIN2 を欠損したときの影響を調べると、BRCA1 や BRCA2 の欠損と同様に、GEMIN2 の欠損で相同組換え効率と RAD51 の核内のフォーカス形成の低下が見られた。ヒト細胞で GEMIN2 を発現低下させても、同様の RAD51 の核内フォーカス形成の低下が見られた。これらの結果から、GEMIN2 欠損細胞では、RAD51 が DNA 損傷部位で重合する段階で欠損が見られることがわかった。以上の観察と生化学実験の結果とから、GEMIN2 は、RAD51 を単鎖 DNA 上に重合させる新規 RAD51 メディエーターとして、相同組換えの制御に関与することが示された。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

相同 DNA 組換えは、放射線治療やシスプラチン等の抗がん治療による DNA 損傷を修復するのに重要な働きをする。RAD51 は相同 DNA 組換えで中心的な役割をする。本学位申請者は、RAD51 と相互作用する因子を、yeast two hybrid スクリーニングで探索した結果発見された GEMIN2 タンパク分子の機能解析を行った。共同研究者による生化学実験によって、GEMIN2 は、RAD51-DNA の複合体形成を促進することが解明された。

GEMIN2 の機能解析のため、ニワトリ B リンパ細胞株 (DT40) を用いて、GEMIN2 遺伝子破壊を行った。その結果、GEMIN2 は細胞増殖に必須であることがわかった。そこで、GEMIN2 条件変異細胞を作製した。この細胞を用いて GEMIN2 を欠損したときの影響を調べると、GEMIN2 の欠損で相同組換え効率と RAD51 の核内フォーカス形成の低下が見られた。ヒト細胞で GEMIN2 を発現低下させても、同様の RAD51 の核内フォーカス形成の低下が見られた。以上の結果から、GEMIN2 は、RAD51 を単鎖 DNA 上に重合させる新規 RAD51 メディエーターとして、相同組換えの制御に関与することが示された。

以上の研究は相同組換え機構の解明に貢献し、今後の新たながん治療開発に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士 (医学) の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成 22 年 6 月 22 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日： 年 月 日以降