

京都大学	博士 (医学)	氏名	中原 真
論文題目	Genetic evidence for single-strand lesions initiating Nbs1-dependent homologous recombination in diversification of Ig V in chicken B lymphocytes (ニワトリ B 細胞での IgV 遺伝子多様化における Nbs1 依存的な相同組み換えは一本鎖 DNA 損傷により開始される事の遺伝学的証拠)		
<p>(論文内容の要旨)</p> <p>相同組み換え (HR) は DNA 二重鎖切断 (DSB) によって引き起こされる。しかしながら、一本鎖損傷によってもまた HR が引き起こされるかについては明らかにされていない。</p> <p>ニワトリ B 細胞において、免疫グロブリン (Ig) V 遺伝子は HR (Ig 遺伝子変換) と鋳型非依存的な体細胞超変異によって多様化する。これらの Ig V 遺伝子多様化は、AID 依存的な塩基欠損部位形成によって開始される。塩基欠損部位では複製フォークが失速し、それに伴い一本鎖のギャップが形成される。このギャップは誤りがちな DNA ポリメラーゼによって埋められ、その結果体細胞超変異が起こる。しかしながら、この一本鎖のギャップが DSB に変換される事なく、Ig 遺伝子変換を開始する事ができるかについては明らかになっていない。</p> <p>3'一本鎖突出を作り出す活性を有する Mre11-Rad50-Nbs1 (MRN) 複合体が酵母において、DSB によって誘導される HR の開始を促進する事が知られている。本論文で、一部を欠損した Nbs1 タンパク (Nbs1^{p70}) のみを発現する DT40 細胞では、HR による DSB 修復の不全と、顕著な Ig 遺伝子変換の減少を示す事を報告する。興味深い事に、この Ig 遺伝子変換の減少は、3'から 5'の一本鎖特異的なヌクレアーゼである <i>E.coli</i> の SbcB の過剰発現により、DSB 修復に影響する事なく、野生型程度まで回復する。一方、ニワトリ Exo1 を過剰発現すると、DSB に誘導される遺伝子ターゲティングの効率が 10 倍以上増加するが、Ig 遺伝子変換には全く影響を及ぼさなかった。これらの結果は、Ig 遺伝子変換が DSB よりもむしろ一本鎖のギャップによって開始され、さらに DT40 細胞では SbcB と同様に、MRN 複合体は AID に誘導された傷を一本鎖のギャップに変換できる事を示唆している。以上の結果より、Ig 遺伝子変換と体細胞超変異は一本鎖のギャップという基質を共有している可能性が考えられた。</p> <p>塩基欠損部において複製ブロックの結果生じるギャップが HR や誤りがちなポリメラーゼで埋められる事象の分子メカニズムは、DT40 細胞において Ig V 遺伝子多様化の機構を遺伝学的に解析する事によってのみ明らかにされる。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

ニワトリ B 細胞では、抗体可変領域遺伝子は、抗体遺伝子変換 (Ig gene conversion、以下に IgGC と略す) と呼ばれる相同組み換えによって多様化する。IgGC は、AID が塩基欠損部位を形成する事によって開始される。しかしながら、この塩基欠損がどのように IgGC を開始するか不明である。

本論文では、Nbs1 タンパクの一部を欠損した DT40 細胞では、IgGC が顕著に減少する事を示し、Nbs1 が IgGC に重要な役割を持つ事を明らかにし、さらに IgGC が DSB よりもむしろ一本鎖のギャップによって開始される事を明らかにした。

シスプラチン等の抗ガン剤処理によって一本鎖のギャップは誘導されるが、HR がその耐性に関与する事が知られている。本研究で明らかになった一本鎖のギャップが HR を誘導できるという事実が、この耐性メカニズムの一端になっている事が考えられ、臨床面においても非常に重要な知見である。

以上の研究は、IgGC の分子メカニズムの解明に貢献し、高等真核生物における、相同組み換えの機構の解明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 21 年 2 月 20 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