

京都大学	博士 (医科学)	氏名	Rahman Md Maminur
論文題目	Genetic Evidence for the Involvement of Mismatch Repair Proteins, PMS2 and MLH3, in a Late Step of Homologous Recombination (ミスマッチ修復蛋白質PMS2とMLH3は、相同組換え修復後期過程の組換え中間体DNA構造の解消に機能する。)		
(論文内容の要旨)			
<p>DNA double-strand breaks (DSBs) are highly cytotoxic lesions, posing a major threat to genomic integrity. DSBs can be repaired by two major pathways, homologous recombination (HR) and non-homologous end-joining (NHEJ). Homologous recombination (HR) repairs DNA double-strand breaks using intact homologous sequences as template DNA. Broken DNA and intact homologous sequences form joint molecules (JMs), including Holliday junctions (HJs), as HR intermediates. The HJs can be processed to result in a crossover or a non-crossover (NCO) outcome, depending on the directionality of the cut made by structure-specific endonucleases, including MUS81 and GEN1. Several studies demonstrated that mismatch repair factors, such as MLH3 and PMS2, promote HR by processing JMs. However, it remains elusive how mismatch repair factors are involved in the processing of JMs in HR.</p> <p>Here, to elucidate the mechanism of PMS2 and MLH3 in the HR, the MLH3 and PMS2 genes are disrupted using a human B cell line TK6 cells. These mutants showed impaired HR efficiency, 2.5 times decrease in the frequency of heteroallelic HR dependent repair. The impaired HR efficiency suggests their role in HR. Both PMS2 and MLH3 are endonucleases and to investigate the endonucleolytic function of PMS2 and MLH3 in HR endonucleolytic death point mutants are also generated. These mutants are denoted as MLH3DN/DN and PMS2EK/EK. Phenotypic analysis of these MLH3DN/DN and PMS2EK/EK mutants showed similar phenotypes like MLH3^{-/-} and PMS2^{-/-} cells respectively. These data indicate that MLH3 and PMS2 promote HR as an endonuclease. The MLH3DN/DN and PMS2EK/EK double mutants showed additive effect on the heteroallelic HR. MLH3DN/DN/PMS2EK/EK cells showed normal kinetics of γ-irradiation-induced Rad51 foci but a significant delay in the resolution of Rad51 foci. This mutant also showed a significant decrease in the number of cisplatin-induced sister chromatid exchange (SCE). The ectopic expression of the structure-specific endonucleases Gen1 HJ resolvase partially reversed the defective heteroallelic HR of MLH3DN/DN/PMS2EK/EK cells which suggest the role of PMS2 and MLH3 in Holliday Junction resolution. Taken together, it is proposed that MLH3 and PMS2 promote HR as endonucleases, most likely in the late step of Homologous recombination by processing JMs in mammalian somatic cells.</p>			

(論文審査の結果の要旨)

DNA 二重鎖切断(DSB)は、最も重篤な DNA 損傷とされる。DSB は、非相同末端結合経路と相同組換え(HR)経路によって修復される。相同組換え欠損細胞は、DNA 切断を発生させる放射線や化学物質に対し超感受性になることから、DSB 修復に HR が果たす役割は大きい。本研究は、DNA 複製時に誤って新生合成鎖に取り込まれた塩基を除去するミスマッチ修復(MMR)因子が、本来の機能とは別に、HR 修復に重要な役割を果たしていることを明らかにした。

ヒト TK6 B 細胞から樹立した MMR 欠損細胞の中で、MLH3 と PMS2 欠損細胞は、放射線に対して超感受性を示し、HR 修復進行に伴う RAD51 foci (相同組換え修復進行のバイオマーカー) 消失遅延と HR 頻度低下が見られた。これらのことは、MMR 修復因子の中でも MLH3 と PMS2 が、RAD51 の機能後に発生する HR 中間体解消に重要な役割を果たすことを示唆した。HR 中間体解消に機能することがすでに知られている GEN1 ヌクレアーゼの過剰発現によって、MLH3 と PMS2 欠損の HR 欠損が回復したことから、MLH3 と PMS2 が GEN1 ヌクレアーゼとは独立して、HR 中間体の解消に重要な役割を担っていることがわかった。以上の研究は、HR 反応の MMR 因子による新しい制御機構解明に貢献し、MMR 因子を標的とした新規の抗がん剤開発に向けた基礎的知見を提供する。

したがって、本論文は博士 (医科学) 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、令和 2 年 1 2 月 2 4 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