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)		

（論文内容の要旨）

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。

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。

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*E.coli*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。

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。

（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