

氏 名	こう ざき まさ おき 香 崎 正 宙
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 3075 号
学位授与の日付	平 成 19 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研 究 科 ・ 専 攻	医 学 研 究 科 生 理 系 専 攻
学位論文題目	Cooperative Roles of Vertebrate Fbh1 and Blm DNA Helicases in Avoidance of Crossovers during Recombination Initiated by Replication Fork Collapse. (Fbh1 ヘリカーゼは Blm ヘリカーゼと協力して複製フォーク崩壊によって誘導される組み換えに対応する)
論文調査委員	(主 査) 教 授 小 松 賢 志 教 授 丹 羽 太 貫 教 授 松 本 智 裕

論 文 内 容 の 要 旨

Fbh1 (human F-box DNA helicase 1) は, superfamily 1 helicae として同定された DNA helicase であり, *in vitro* で DNA 依存的な ATPase 活性, 及び, 3' から 5' 方向へのヘリケース活性を持つことが分かっている。また, Fbh1 は Skp1 と結合することによって, ユビキチンライゲース E3 の一種である SCF 複合体を形成し, ユビキチンライゲース活性を示す事も分かっている。Fbh1 と RecQ ヘリカーゼである Rqh1 は, *S. pombe* では不要な組み換え中間体を抑制することが知られている。本研究では, ニワトリ DT40 細胞を用いて FBH1 を破壊することによって, 脊椎動物での Fbh1 の機能を解析した。酵母とは異なり, DT40 での *FBH1* 変異株では, SCE の頻度が上昇する事を除いては顕著な表現型が見られなかった。そこで, 他の遺伝子との機能的な重複を検討する為に, *RAD54* や *BLM* との二重欠損株を作製した。*RAD54* や *BLM* 欠損株に比べて, *FBH1RAD54* や *FBH1BLM* 二重欠損株では, 複製期に二本鎖切断を誘導するカンプトテシンに対して有意に高感受性を示し, 染色体型の断裂が多く観察された。また, DNA ダメージを各細胞周期において誘導した後染色体異常を調べると, S 期で DNA ダメージを受けた細胞で, BLM 欠損株で見られるような, 相同染色体間での組み換えが上昇する事が観察された。これらの事から, Fbh1 ヘリカーゼが, 複製異常によって引き起こされるクロスオーバー型の HR を, Blm ヘリカーゼと協力して抑制する事で, 姉妹染色分体間での組み換え, 及び相同染色体間の組み換えに対して重要な働きを示す事が示された。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

Fbh1 (F-box DNA helicase 1) は, スーパーファミリー 1 ヘリケースに属する DNA ヘリケースで酵母からヒトまで保存されている。分裂酵母の Fbh1 は, RecQ ヘリカーゼの Rqh1 と協同し, 複製中に生じた異常な組み換え中間体生成を抑制するが, 脊椎動物における機能は未解明である。

本研究では, ニワトリ DT40 細胞の *FBH1* 遺伝子を破壊し, 脊椎動物の Fbh1 の機能を解析した。その結果, *FBH1* 欠損株では, 酵母と異なり, DNA 合成 (S) 期に誘導された DNA 損傷を起源とする相同染色体間や姉妹染色分体間の組み換え頻度が上昇する以外に異常な表現型を示さなかった。しかし, RecQ ヘリカーゼの相同遺伝子で, 高発がん性遺伝病の原因遺伝子の *BLM* との二重欠損株を作製したところ, その二重欠損株は, カンプトテシンに対する致死感受性が *BLM* 単独欠損株に比べて高く, 染色体型断裂が高頻度に誘導されることを発見した。カンプトテシンは, DNA 複製時に DNA 二重鎖切断を誘導するが, その切断は, もう一方の正常姉妹染色分体との相同組み換えによって修復される。従って, Fbh1 の機能は, 切断姉妹染色分体と正常な姉妹染色分体との相同組み換え開始後に, 組み換え反応を無事に完了させることにある。これらの結果は, Fbh1 ヘリカーゼが Blm ヘリカーゼと相補的に, 複製期における相同組み換えによる修復反応に関わることを示唆する。

以上の研究は、脊椎動物細胞における DNA 損傷修復の機構の解明に貢献し、高発癌を引き起こす原因遺伝子の機能を解明する研究の発展に寄与するところが多い。従って、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19年2月6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。