論文内容の要旨

申請者氏名 吉田純平

本論文は、自然染色体異常の発生を出芽酵母二倍体細胞でのヘテロ接合性の喪失 (Loss of heterozygosity; LOH) を指標により検出する実験系を用いて、自然染色体異常の発生に関与すると思われる相同組換え機構、二重鎖切断修復機構、および複製後修復機構の役割について解析を行ったものである。第1章では染色体レベルでの遺伝情報の変化についてのこれまでの研究の到達点と問題点について詳細に論述し、特に出芽酵母二倍体細胞をモデルとした解析系を用いた研究で見いだされた様々な染色体異常・再編に相同組換え機構が多面的に関与していることを研究の出発点として記述している。第2章での詳しい研究方法の解説の次に、第3章では三つの項目に分けて実験結果を示している。申請者は、まず染色体異常・再編の発生における相同組換えの役割を明確にするため、相同組換え関連遺伝子である RAD52、RAD51 および RAD50 遺伝子を欠損した株を作製し、それらに生じる LOH を詳細に解析している。その結果から、増殖中の細胞内では染色体の崩壊や複製阻害をもたらす様な自然 DNA 傷害が頻繁に生じており、それらは相同組換え機構によってエラーフリーに、つまり LOH を伴わない形で回避されていることを考察し、さらに、自然 DNA 傷害の多くは相同組換え機構により回避されているが、その過程の一部が染色体異常・再編を引き起こしていることを推測している。次に、損傷乗り越え DNA 合成を含めた複製後修復機構や NHEJ の役割を明らかにするために、これらの経路に関連する遺伝子を欠損した株で LOH を解析している。その結果、相同組換えの場合と同様、複製後修復も染色体の崩壊や複製阻害の回避に寄与していること、一部の自然 DNA 傷害は複製後修復と相同組換えのいずれの経路でも回避可能であり、一方の欠損時にはもう一方が回避プロセスを代替できること、NHEJ に関しては少なくとも自然 DNA 損傷の回避や LOH の発生には関与していないことを明らかにしている。以上の実験結果をふまえて、第4章では自然染色体異常の発生原因を相同組換えを誘発する DNA 傷害として捉えて、それらについての発生から最終的な帰結までについて考察している。特に、相同組換えの様々な経路の役割について深い議論を行っている。また、相同組換え機構とそれ以外の機構、すなわち複製後修復と NHEJ の役割についても相同組換え機構との関係について多方面からの考察を行っている。最後に、自然染色体異常・再編の分子機構についての全体像を提示し、今後の研究の方向性についても言及している。

論文審査結果の要旨

申請者氏名 吉田純平

染色体の再編はゲノム情報の維持および生物進化を考える上で最も基本的な問題である。また、癌や各種の遺伝病などの遺伝子疾患の発症に伴って、頻繁に染色体再編が見出される。これらのことから、染色体再編の発生や制御の分子機構の解明は生物学上の問題にとどまらず医学の上でも重要な課題となっている。本論文は、自然染色体異常の発生を出芽酵母二倍体細胞でのヘテロ接合性の喪失 (Loss of heterozygosity; LOH) を指標により検出する実験系を用いて、自然染色体異常の発生に関与すると思われる相同組換え機構、二重鎖切断修復機構、および複製後修復機構の役割について解析を行ったもので、以下の成果をあげている。

1) 出芽酵母の相同組換えの複数の経路にそれぞれ関与する *RAD52*、*RAD51* および *RAD50* 遺伝子の欠損株での解析から、姉妹染色分体間の組換えにはこれら全ての遺伝子が必要であることを示した。さらに、それぞれの欠損株で生じる染色体異常の質的および量的な違いから、自然 DNA 傷害の多くは相同組換え機構により回避されているが、その過程の一部が染色体異常・再編を引き起こしていることを推測した。

2) 複製後修復に関与する複数の遺伝子の欠損株の解析から、この経路も染色体の崩壊や複製阻害の回避に大きく寄与していることを示した。さらに、一部の自然 DNA 傷害は複製後修復と相同組換えのいずれの経路でも回避可能であり、一方の欠損時にはもう一方が回避プロセスを代替できることを明らかにした。

3) 二重鎖切断修復に関与する *HDF1* 単独欠損および *rad52* との二重欠損のいずれの場合も LOH に対する影響は殆ど認められなかったことから、二重鎖切断修復機構は少なくとも自然 DNA 損傷の回避や LOH の発生には関与していないことが示唆された。

以上のように、本論文は真核生物の自然染色体異常の発生と抑制に関与する分子機構に関して世界で初めて体系的な解析を行い、自然染色体異常の主要な原因が自然 DNA 傷害に起因することを示した上で、その損傷に由来する染色体複製阻害を解消するための様々な経路の働きや相互作用を詳細に明らかにしたもので、学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって審査委員一同は、本論文が博士 (バイオサイエンス) の学位論文として価値あるものと認めた。