

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	
Title(English)	FUNCTIONAL ANALYSIS OF SMC5/6 COMPLEX IN HUMAN CELLS
著者(和文)	ガレゴ パ イ リ マルセア
Author(English)	LINA MARCELA GALLEGO PAEZ
出典(和文)	学位:博士(理学), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第9404号, 授与年月日:2014年3月26日, 学位の種別:課程博士, 審査員:白髭 克彦,岩崎 博史,田中 幹子,駒田 雅之,梶川 正樹
Citation(English)	Degree:Doctor (Science), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第9404号, Conferred date:2014/3/26, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Category(English)	Doctoral Thesis
種別(和文)	審査の要旨
Type(English)	Exam Summary

論文審査の要旨及び審査員

(2000字程度)

報告番号	乙 第 号	学位申請者	GALLEGO PAEZ LINA MARCELA ガジェゴ パエス リナ マルセラ	
論文審査員	氏 名	職 名	氏 名	職 名
	主査 白髭 克彦	教授	梶川 正樹	講師
	岩崎 博史	教授		
	田中 幹子	准教授		
	駒田 雅之	准教授		

本論文は、「Functional analysis of Smc5/6 Complex in Human cells」と題し、六章から構成され、ヒト培養細胞を研究材料とし、Smc5/6 複合体の機能を基軸として、細胞周期の進行にともなってクロマチンの構造がいかに変換されるのかを明らかにした研究である。

第一章では、クロマチン構造の制御において中心的な役割を担う SMC (Structural Maintenance of Chromosomes) 複合体の概略が記されている。SMC1/3 はコヒーシン複合体、SMC2/4 はコンデンシン複合体を構成する因子として、それぞれ姉妹染色分体の結合とクロマチンの凝縮を誘導することが知られる一方で、SMC5/6 複合体はその役割が必ずしも明らかではなかった。特に、これまで SMC5/6 の機能は概ね DNA 損傷下において調べられてきたこと、通常の細胞周期進行での役割は不明であったことが強調されている。

第二章では、SMC5/6 複合体は間期では細胞核に局在してクロマチンに作用するが、分裂期になるとその大部分がクロマチンより解離することが示されている。先ず SMC5/6 の抗体及び、Smc5/6 の標識細胞を作成した。特に、後者は生理的発現プロファイルを得る目的で標識したゲノム DNA の導入を行った。これらを用いて、免疫細胞染色、生細胞イメージング解析とともに、クロマチン分画の生化学的解析によってその動態を解析した。この結果より、SMC5/6 複合体は間期において機能する可能性を示唆している。

第三章では、Smc5/6 が DNA 複製過程の進行に不可欠な役割を担うことが示されている。SMC5/6 はその高い安定性から、RNAi によってノックダウンするまでに長時間を要した。一方で、細胞周期が回転しながら徐々に発現量が低下すると DNA 損傷を蓄積した。これら二点を克服するために、血清飢餓による細胞周期停止法と RNAi を組み合わせる方法を立案し、それによって初めて、Smc5/6 の欠損細胞が DNA の複製が著しく遅延することを示した。複製フォークの崩壊を示唆する DNA 損傷がみられたことから、この複合体は、複製フォークの進行に関与すると考察している。

第四章では、M期染色体の形態を解析し、Smc5/6 の欠損細胞では、染色体軸索のコイル状変化を特徴とする異常な染色体を形成することが示されている。特に、セントロメアやテロメアといった繰り返し配列の領域に異常な構造が生じて、染色体間のブリッジといった染色体分離異常を誘発することを見出した。

第五章では、ChIP-sequence 解析と、独自に確立した染色体スプレッドの免疫染色法によって、Smc5/6 の欠損細胞でみられる染色体構造異常は、トポイソメラーゼ II α (TopoII α) の動態異常と関連があることを明確に示した。さらに DNA 複製の進行異常との関連性を検討するために、PCC (Premature Chromosome Condensation) 法、BrdU 標識、免疫染色法の三者を組み合わせた実験を行い、Smc 複合体による DNA 複製進行の促進が、複製直後に TopoII α のクロマチン結合を促すこと、S 期に TopoII α が適正にクロマチン結合することが M 期における染色体の構築に必要であることを示唆している。

第六章では、Smc5/6 の観察を総じて、M期染色体の構築は、DNA 複製直後から始まっていると結論づけている。Smc5/6 は複製フォーク構造の維持にかかわっているのではないかと、ゲノム不安定病の細胞病態の背景に Smc5/6 の機能低下があるのではないかと考察し、それらの解明が次なる課題と述べている。

以上、本研究の成果は、安定したゲノム継承に必要な M 期での染色体の構築を、細胞周期のなかに位置づけるものであり、DNA 複製から染色体が分配されるまでに進むクロマチン構造変換について新たな視点を導入したと評価でき、今後の関連分野の発展に大きく貢献することが見込まれる。したがって本論文は博士(理学)の学位論文として十分な価値があるものと認められる。