

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	DNA二重鎖切断修復の制御におけるXRCC4タンパク質極C末端(XECT)領域の機能
Title(English)	Function of XRCC4 extremely C-terminal (XECT) domain in the regulation of DNA double-strand break repair
著者(和文)	WANOTAYANRUJIRA
Author(English)	Rujira Wanotayan
出典(和文)	学位:博士(学術), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第9900号, 授与年月日:2015年3月26日, 学位の種別:課程博士, 審査員:松本 義久,竹下 健二,塚原 剛彦,林崎 規託,岩崎 博史,富田 雅典
Citation(English)	Degree:., Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第9900号, Conferred date:2015/3/26, 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

報告番号	甲第	号	学位申請者氏名		Rujira Wanotayan	
			氏名	職名		
論文審査 審査員	主査		松本 義久	准教授	岩崎 博史	教授
	審査員		竹下 健二	教授	富田 雅典	電力中央研究所 主任研究員
			塚原 剛彦	准教授		
			林崎 規託	准教授		

論文審査の要旨 (2000 字程度)

本論文は、「Function of XRCC4 extremely C-terminal (XECT) domain in the regulation of DNA double-strand break repair (DNA 二重鎖切断修復の制御における XRCC4 タンパク質極 C 末端 (XECT)領域の機能)」と題し、全 6 章から構成されている。

第 1 章「Introduction」では、放射線によるさまざまな DNA 損傷の中で最も重篤で、放射線生物作用に最も密接に関わると考えられる DNA 二重鎖切断(以下、DSB)の修復機構についてこれまでに明らかになっていることをまとめている。真核細胞において、DSB は主として非相同末端結合(以下、NHEJ)と相同組換えの二つの機構によって修復されるが、XRCC4(X-ray repair cross-complementing 4、X 線感受性相補群 4)は NHEJ において中心的な役割を担う分子の 1 つである。XRCC4 は 336 個のアミノ酸からなり、その N 末端側の約 200 アミノ酸の領域には他の NHEJ 関連分子である DNA ligase IV、XLF との結合領域があり、XRCC4 の機能に必須とされているが、C 末端側の約 130 アミノ酸の領域の機能については不明の部分が多く、不要とする報告もあることを述べている。しかし、XRCC4 の最も C 末端に位置する約 20 アミノ酸の領域(極 C 末端(XECT)領域)は種々の脊椎動物の XRCC4 の間で高度に保存されていることを指摘し、それゆえにこの領域は XRCC4 の機能上重要である可能性があることを述べている。これらを踏まえ、本研究の目的は XRCC4 の XECT 領域の機能を明らかにすることであると述べている。

第 2 章「Analyses of the cellular characteristics of cells lacking XECT domain」では、311 番目のリジン(Leu)を停止コドンに変えることにより XECT 領域を欠失させた変異体(以下、K311X)を作製している。これを XRCC4 欠損マウス細胞 M10 に導入して、性状解析を行い、K311X 変異体は正常 XRCC4 に比べて細胞増殖速度のわずかな低下が見られるものの、放射線感受性や放射線照射後のリン酸化誘導はほぼ同様であることを示している。

第 3 章「Examination of the characteristics of XECT domain」では、XECT 領域のアミノ酸を 1 個ずつ別のアミノ酸に置換した変異体 16 種類を作製し、M10 細胞に導入し、放射線感受性を指標とした機能解析を行っている。その結果、325 番目のアルギニン(Arg)をフェニルアラニン(Phe)に置換した変異体と 326 番目のアスパラギン(Asn)をロイシン(Leu)に置換した変異体(以下、N326L)では機能が低下することを見出している。

第 4 章「Analyses of XRCC4 N326 in DNA repair」では、はじめに、正常 XRCC4 および N326L 変異体をヒト子宮頸癌細胞 HeLa に導入して細胞内局在を検討し、正常 XRCC4 が核に局在するのに対し、N326L 変異体は細胞質に局在することを示している。Asn326 の位置は XRCC4 の核移行シグナルからは離れており、また、N326L 変異により正常 XRCC4 にはない核外移行シグナル類似配列が生ずることから、N326L は核移行ができないのではなく、核外輸送を受けるのではないかと推論している。そこで、核外輸送の阻害剤である Leptomycin B を作用させると、N326L 変異体が核に局在すること、放射線感受性が部分的に回復することを示し、N326L 変異体の機能低下の原因の一つが核外輸送であることを明らかにしている。一方、Leptomycin B による N326L 変異体の放射線感受性回復は完全ではないこと、また、Asn326 を他のアミノ酸に置換した変異体を作製すると、いずれも核に局在するが、正常 XRCC4 より放射線高感受性であることから、Asn326 が核への局在以外にも重要な役割を担うことを明らかにしている。

第 5 章「Examination of the interaction of N326L with other proteins」では、K311X 変異体および N326L 変異体のリン酸化状態や他の分子との相互作用を調べている。その結果、正常 XRCC4 では DNA 依存性プロテインキナーゼによる 320 番目のセリン(Ser)のリン酸化が放射線照射後に増加するが、N326L 変異体ではこれが著しく減弱することを明らかにしている。

第 6 章「Conclusion」では、以上の研究で明らかになったことをまとめて、結論を述べている。これを要するに、本論文は、DNA 二重鎖切断修復の最終段階において DNA 末端同士の結合を司る XRCC4 の XECT 領域の重要性を明らかにし、DNA 二重鎖切断修復の分子メカニズムに新規で重要な知見を与えるものであり、学術上貢献するところが大きい。よって、本論文は博士(学術)の学位論文として十分価値あるものと認められる。

注意:「論文審査の要旨及び審査員」は、東工大リサーチポータル(T2R2)にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。