

## 審査の結果の要旨

氏名 宮島 敦子

出芽酵母 *SGS1* は、大腸菌において DNA 修復及び組み換えに関与している *recQ* と相同性の高い遺伝子である。ヒトにおいては、現在までに 5 種類の *recQ* 相同遺伝子が報告されており、それらの中には、ブルーム症候群、ウェルナー症候群、ロトムント・トムソン症候群の原因遺伝子が含まれる。これら 3 つの症候群はいずれも、癌多発性、DNA 修復異常、染色体不安定性を示す常染色体劣性遺伝疾患である。ゲノムプロジェクトが終了している出芽酵母においては、ライブラリー検索の結果、*SGS1* が唯一の *recQ* 相同遺伝子であったことから、酵母細胞の Sgs1 蛋白質は、ヒトにおける複数の RecQ 相同産物の機能を合わせ持つものと考えられた。「ブルーム症候群原因遺伝子の酵母相同遺伝子 *SGS1* の機能解析」と題する本論文においては、酵母細胞を用いて *SGS1* の機能について分子遺伝学的な解析を進め、ヒトにおけるこれらの *recQ* 相同遺伝子産物の機能と、疾患発症のメカニズムとの関連について検討を進めている。

### 1. 体細胞分裂期および減数分裂期における Sgs1 の機能の解析

本論文では、先ず酵母細胞において *sgs1* 遺伝子破壊株を作製し、その表現型について検討している。その結果、体細胞分裂期において *sgs1* 破壊株は、アルキル化剤である methyl methanesulfonate (MMS), ethyl methanesulfonate (EMS)、および hydroxyurea (HU) に感受性を示し、高頻度の染色体間相同組み換えを示した。これらの結果より、出芽酵母において Sgs1 は、DNA 修復、体細胞分裂期 DNA 組み換えにおいて重要な役割を果たしていることを明らかにした。この結果は、ブルーム症候群患者の細胞がアルキル化剤に感受性を示すという報告、及び 3 疾患に共通するゲノムの不安定性と深い関連があると考えられた。

減数分裂組み換え期において *sgs1* 破壊株は、孢子形成の低下、減数分裂組み換え頻度の低下を示した。また *SGS1* mRNA の誘導が観察された。減数分裂の過程を

追いながら、Sgs1 の減数分裂における機能について検討を行った結果、Sgs1 は減数分裂において、複数の過程（減数分裂前 DNA 合成の終了から DNA 2 本鎖切断形成の過程、及び組み換えの後期から孢子形成の過程）に機能していることが示唆された。ブルーム症候群患者において、男性患者の不妊が報告されており、このメカニズムを解明する上で重要な知見となることが期待できる。

## 2. 部位特異的変異導入および N 末端、C 末端欠失体を用いた SGS1 の機能解析

部位特異的変異導入 SGS1 vector を用いた解析から、Sgs1 の体細胞分裂期と減数分裂期の機能において、helicase 活性の要求性が異なることを初めて明らかにした。さらに、N 末端、C 末端の欠失 SGS1 vector を用いた解析から、DNA 修復および体細胞分裂期の DNA 組み換えにおいては、helicase 活性が必須で、N 末端側アミノ酸配列 1-45 及び 698-1195 の helicase domain と RecQ-conserved region が必要であり、減数分裂期における機能においては、helicase 活性は必須ではないが、アミノ酸配列 1-400 及び 596-1195 の部分が必要であることを示した。酵母 two-hybrid system を用いた解析の結果、Sgs1 の N 末端側アミノ酸配列 1-283 は topoisomerase 3 と、446-746 は topoisomerase 2 と相互作用する事が示されており、両機能においてこれらの蛋白質との相互作用が大きく関与していることが示唆された。

以上を要するに本論文は、Sgs1 が酵母細胞において、DNA 修復及び減数分裂において機能していることを明らかにし、Sgs1 の体細胞分裂期と減数分裂期の機能において、helicase 活性の要求性が異なることを初めて見出している。さらにヒトにおける疾患と同様の変異を導入した解析から、酵母の実験系が、ヒトの recQ 相同遺伝子産物の評価系としても有用であることを示している。本論文の研究成果は、出芽酵母における Sgs1 の機能を明らかにしただけでなく、recQ 相同遺伝子産物の機能及び疾患発症のメカニズムを解析する上で重要な知見を与えるものであり、博士（薬学）の学位論文として十分な価値があるものと思われる。