

岡元 信和氏の学位論文審査の要旨

論文題目

胚中心 B 細胞機能分子 GANP は選択的 mRNA 輸送に関与し細胞分裂に必須である

(Germinal center-associated nuclear protein (GANP) is essential for cell division through regulation of selective mRNA export)

mRNA の核外輸送には特定の分子が関わり、その欠損はゲノム傷害を引き起こすことが出芽酵母で明らかにされたが、哺乳類細胞での mRNA 核外輸送の機構には不明な点が多い。本論文では、GANP タンパク質が、mRNA 核外輸送に関わる酵母 SAC3 との相同性を有することに着目し、哺乳類細胞における mRNA 核外輸送と細胞周期における役割を検討した。方法として、HeLa 細胞を用いた RNA 干渉法によって、GANP の発現抑制が細胞に及ぼす効果について解析した。細胞周期をフローサイトメーター解析、分子発現等を蛍光免疫染色法とウェスタンブロット法で調べた。細胞周期関連遺伝子の mRNA 発現を半定量的 RT-PCR とリアルタイム RT-PCR で解析した。mRNA の細胞内局在については、*insitu*RNA ハイブリダイゼーション法を用いた。姉妹染色体間交換 (SCE) の頻度は、染色体を BrdU で標識し、細胞をギムザ染色して解析した。

結果として、GANP の発現抑制によって、G2/M 期における細胞周期停止、アポトーシスの増加、分裂期の染色体配列異常を認めた。紡錘体チェックポイントについては保持されていた。分裂期において、セントロメア領域での姉妹染色体間接着の障害を認めたが、姉妹染色体を接着するコヒーシンの発現と局在には異常を認めなかった。しかし、姉妹染色体間接着を分裂中期まで保持する hSgo1 の発現が低下していることが判明し、核内に hSgo1 mRNA の貯留を認めることから、その mRNA 核外輸送の障害が示唆された。この mRNA 輸送には GANP の SAC3 相同領域が関わっていた。他方、解析した他の細胞周期関連遺伝子の発現については変化を認めなかった。さらに GANP の発現抑制は、SCE の頻度を低下させることが分かった。以上の結果から、ヒト細胞において、GANP が hSgo1 の mRNA 核外輸送に関わることで、細胞周期制御および姉妹染色体間交換などの染色体安定性に重要な役割を果たす可能性が示唆された。

審査において、(1) GANP による細胞周期制御のメカニズム、(2) GANP の標的遺伝子の網羅的解析の有用性、(3) hSgo1 の発現抑制による効果、(4) 解析に用いた抗体とプライマー、(5) ヒトと酵母における GANP/Sac3 複合体の比較、(6) GANP の癌などの疾患関連性、(7) GANP タンパク質におけるプライマーゼドメインと Sac3 相同ドメインの役割、(8) GANP のノックアウトマウスと過剰発現マウスの表現型、(9) HeLa 細胞以外での実験結果、(10) mRNA 核外輸送の選択性の機序、(11) GANP の細胞内局在、(12) GANP と RNA プロセッシングとの関連性、などについて質問が出され、発表者からは適切な答えと討論がなされた。

本論文は、GANP が hSgo1 mRNA の核外輸送に関わり、細胞分裂の制御において重要な役割を果たすことを明らかにしたものであり、新しい GANP の機能を見出した点で高く評価する。

審査委員長

細胞医学担当教授

中尾 光善

審査結果

学位申請者名：岡元 信和

専攻分野： 運動骨格病態学

学位論文名：胚中心B細胞機能分子 GANP は選択的 mRNA 輸送に関与し細胞分裂に必須である
(Germinal center-associated nuclear protein (GANP) is essential for cell division through regulation of selective mRNA export)

指導教官名： 水田 博志教授、阪口 薫雄教授

判定結果：

㊦ 不可

不可の場合： 本学位論文名での再審査

可 不可

平成 23 年 / 月 / 日

審査委員長 細胞医学担当教授

中尾 花善

審査委員 呼吸器外科学担当教授

鈴木 実

審査委員 乳腺・内分泌外科学担当教授

岩瀬 弘敬

審査委員 細胞病理学担当教授

竹居 元裕