

論文審査の要旨

筆頭著者（学位申請者）氏名

竹内 淳

主論文の題目
および
掲載誌・審査委員

題目 Doxycyclin 誘導性 HERC1 および HERC2 同時発現抑制細胞株
の樹立

掲載誌 聖マリアンナ医科大学雑誌 2015; 43: 171-182

主査 三浦 偉久男

副査 遊道 和雄

副査 津川 浩一郎

[論文の要旨・価値] HERC ファミリー蛋白質には 6 種類あるが、RCC-like ドメインと HECT ドメインを持つ点で共通している。その中の HERC2 は、がん抑制遺伝子のひとつで DNA 損傷応答にかかわる BRCA1 を分解するユビキチンリガーゼであることを申請者らが示している。本研究は不明な点の多い HERC2 の機能をさらに解析するために行われた。申請者は HECT ドメインを含むリコンビナント蛋白質を大腸菌に発現させ、これを抗原として抗 HERC2 ウサギポリクローナル抗体を作製した。HERC ファミリー蛋白質には HERC2 と構造が類似する HERC1 があり、両者は機能を補完する可能性がある。従って HERC2 の発現を抑制してその機能を調べるには、HERC1 の発現も抑制しておく必要がある。このために申請者はドキシサイクリン (Dox) 存在下で HERC2 に対する shRNA を発現誘導できるベクターを作製し、レンチウイルスベクターを用いてヒト細胞株 (HeLa・HCT116・U2OS) に遺伝子導入して Dox 誘導性 HERC2 発現抑制細胞株を樹立した。同様に Dox 存在下で HERC1 に対する shRNA を発現誘導できるベクターを作製し、レンチウイルスベクターで HERC2 発現抑制細胞株に遺伝子導入して Dox 誘導性 HERC1/HERC2 発現抑制細胞株を樹立した。Dox 存在下で HERC1 と HERC2 の発現が両方抑制されることはウエスタンブロット法で確認した。これらの細胞株を用い DNA 損傷応答を調べたところ、HERC1 あるいは HERC2 単独抑制細胞株と比較して HERC1/HERC2 発現抑制細胞株では放射線照射後の DNA 損傷部位への Replication protein A の集積が抑制されていることがわかった。今回樹立した Dox 誘導性 HERC1/HERC2 発現抑制細胞株は、今後 HERC1 と HERC2 が細胞周期や DNA 損傷応答に果たす役割を明らかにしていく上で極めて有用である。

[審査概要] 審査は、主査・副査および指導教授と陪席者のもとで行われた。発表は約 20 分間で、その後約 30 分間の質疑応答が行われた。申請者は真摯で多くの質問に適切に回答した。

最終試験結果の要旨

[研究能力・専門的学識・外国語（英語）試験等の評価] 申請者は十分な発表能力を持ち、該当する研究領域と周辺の領域に関する専門知識を持つことを示した。申請者は本研究に主体的に取り組み、研究のさらなる発展にも意欲を示しており今後の発展が期待できる。申請論文の文献のひとつを指定し、その場で読んで和訳してもらい十分な英文読解力があると判断した。樹立された細胞株を用いることで更なる研究の発展が期待でき、申請者は学位授与に値すると判断された。