

学位授与番号	甲第1579号
学位授与年月日	平成15年3月25日
氏名	熊野 智康
学位論文題目	ニワトリ DT40細胞を用いたチェックポイント関連遺伝子 Rad9の放射線感受性に関する検討

論文審査委員	主査	教授	松井	修
	副査	教授	利波	紀久
		教授	山本	博

内容の要旨及び審査の結果の要旨

細胞に電離放射線を照射すると細胞周期が一時的に停止する現象が見られ、近年では細胞周期チェックポイントという概念にて説明される。分裂酵母にて発見された放射線感受性に関連する Rad 遺伝子の一部は、このチェックポイントに関与することが示されている。最近、これらの遺伝子に対して相同性を有する遺伝子がヒトを含む高等動物にて同定されてきたが、まだその機能に関してはよく分かっていない。本研究では Rad 遺伝子の一つである Rad9 に関し、遺伝子ノックアウトを行うことで放射線感受性や細胞周期チェックポイントへの関連について検討した。研究材料としてはニワトリ B リンパ球由来の細胞株で、高頻度に標的組み換えが起こる DT40 細胞を用いた。ニワトリの Rad9 を同定後、エクソンの一部を薬剤耐性遺伝子にて置換して作成されたターゲティングベクターを DT40 細胞内に導入し、Rad9 のノックアウト細胞(Rad9^{-/-}細胞)を作成した。コロニー形成法にて X 線感受性を検討したところ、Rad9^{-/-}細胞は野生型に比べ高感受性を示し、Rad9 は高等動物細胞においても電離放射線感受性に関与することが示された。しかし、電離放射線に対する高感受性やチェックポイントの異常を示すことが明らかとなっている ATM (Ataxia Telangiectasia Mutated) のノックアウト細胞(ATM^{-/-}細胞)と比べると感受性は低く、Rad9 の電離放射線感受性への関与は ATM に比べると少ないことが示された。一方、Rad9^{-/-}細胞は紫外線やヒドロキシ尿素に対しても野生型に比べ高感受性を示したが、電離放射線の場合に比べその変化が著明であり、高等動物において Rad9 は紫外線やヒドロキシ尿素に対する感受性により強く関与する可能性が示唆された。さらに、X 線照射による細胞周期の M 期への進展抑制に関して検討したところ、野生型では X 線照射後 2 時間まで分裂期の細胞はほとんど増加が見られなかったのに対し、Rad9^{-/-}細胞では ATM^{-/-}細胞と同程度に分裂期の細胞の増加を認め、電離放射線による M 期への進展抑制に異常が見られた。この結果から、高等動物細胞においても Rad9 は電離放射線による細胞周期チェックポイント機構に関与していることが示された。以上のように、本研究では Rad9 が高等動物細胞においても電離放射線、紫外線、ヒドロキシ尿素に対する感受性やチェックポイントの両者に関して重要な役割を果たすことを示した。放射線生物学において注目されているチェックポイントに関して遺伝子レベルでの知見を深めた研究であり、学位論文に値するものと評価された。