

氏 名	チン 陳	イ 毅	シン 欣
学位(専攻分野)	博 士 (理 学)		
学位記番号	理 博 第 2685 号		
学位授与の日付	平成 15 年 3 月 24 日		
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当		
研究科・専攻	理 学 研 究 科 生 物 学 専 攻		
学位論文題目	セントロメアヒストン H3 バリエント CENP-A の局在に影響を与える GATA 因子 Ams2 の機能探究		

論文調査委員 (主 査)
教 授 柳 田 充 弘 教 授 西 田 栄 介 教 授 宮 田 隆

論 文 内 容 の 要 旨

CENP-A は染色体の均等分配に必須なセントロメア特異的ヒストン H3 バリエントである。CENP-A の遺伝的關係因子を同定するために、分裂酵母 CENP-A (SpCENP-A) の温度感受性 (ts) 株 *cnpl-1* を作成した。制限温度下、*cnpl-1* 株では染色体の不均等分配が観察され、セントロメア特異的なクロマチン構造も崩壊していることが分かった。また SpCENP-A の変異タンパク質は制限温度下でセントロメアに局在できなかつた。*cnpl-1* の ts を相補する多コピーサープレッサーとしてヒストン H4 及び Ams2 (*cenp-a'smulticopy suppressor*) と名付けた新規の GATA ファクターを分離した。GATA ファクターは GATA をコアにした配列に特異的に結合する C2C2 タイプ zinc finger モチーフを持つ転写因子である。*ams2⁺* は生存に必須ではないが、破壊株ではセントロメア中央領域のクロマチン構造が部分的に崩壊し、常染色体が高頻度に脱落して深刻な生育遅延を示す。驚いたことに *ams2* 破壊株では SpCENP-A のセントロメア結合能が著しく低下していることを見出した。ヒストン H4 あるいは SpCENP-A の増量で *ams2* 破壊株の生育遅延が相補されたので、Ams2 はセントロメア形成にヌクレオソームレベルで関与する制御因子なのかもしれない。一方、野生細胞中で Ams2 を ectopic に増量すると局在能を失った SpCENP-A 変異タンパク質をセントロメアへ局在させることができた。Ams2 は SpCENP-A が局在しているセントロメア中央領域にも局在していて、*in vitro* で GATA をコアする配列に直接結合することも分かった。Ams2 は S 期の前後にクロマチン領域に局在する。Ams2 は細胞周期依存的な制御を受け、セントロメアに結合し機能する可能性が示唆された初めての GATA 因子である。GATA ファクターは標的遺伝子のプロモータ領域に結合しそのヌクレオソーム構造をリモデリングすることが知られている。Ams2 はセントロメア GATA 配列に直接結合しそのヌクレオソームリモデリング活性によって CENP-A の局在を制御しているのかもしれない。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

申請者はセントロメア特異的なヒストン H3 バリエント CENP-A の温度感受性変異体を作成し、その多コピーサープレッサー因子を単離することによって、セントロメア構造の機能と制御について解析した。前半部で申請者は、CENP-A 温度感受性株を用いた同調培養実験を行い、セントロメア特異的なクロマチン構造と染色体の均等分配の経時的な変動を観察し、因果関係を解明した。論文の後半部では、CENP-A の局在を制御する新規な GATA 因子 Ams2 の機能解析を報告した。変異型 CENP-A タンパク質は制限温度ではセントロメア領域に局在出来なくなつたが、Ams2 を増量することでこの異常は解消された。Ams2 による CENP-A の局在制御は染色体複製に依存しないことが示された。逆に、*ams2* 遺伝子を破壊すると野生型 CENP-A が正常にセントロメアへ局在しなくなることを、申請者は多数の方法で明確に証明した。CENP-A の正常な局在性が Ams2 タンパク質の量に依存するという発見は極めて画期的である。申請者は詳細なクロマチン沈降法を用いて Ams2 が CENP-A とセントロメアで共局在していることを示した。セントロメア DNA は GATA 配列に富むが、Ams2 が GATA 配列を含む DNA に結合する。これらの結果は、新規な GATA 因子 Ams2 が生体内ではセン

トロメア DNA に直接結合し、クロマチン再構成により CENP-A を局在化するのではないかという興味深い可能性を示唆している。

CENP-A はセントロメア特異的なクロマチン構造を形成する基盤因子であると考えられており、染色体上でのセントロメア位置の決定する必須因子であると考えられている。従って CENP-A の局在制御機構の解明はセントロメア研究の中心的課題の一つである。これまでに分裂酵母 Mis6 タンパク質が CENP-A 局在制御に重要な働きをすることが示唆されていた。申請者は、Ams2 と Mis6 が異なる経路で CENP-A 局在を制御している可能性を遺伝学的、分子生物学的に示した。この結果は CENP-A の局在制御の複雑さと多様性を示している。最新の報告によれば、セントロメア領域では siRNA が転写されており、これがセントロメアヘテロクロマチンの形成において重要な役割を担っているらしい。以前に報告された GATA の多くは転写因子として知られている。申請者らによる Ams2 の発見と機能解析は、RNA 転写とセントロメアクロマチン構築の関連性について、詳細な理解を進める上で重大な糸口となり得る。

本論文で報告されたセントロメア構築についての申請者らの一連の発見は、Science 誌及び Molecular Cell 誌に発表され、世界的に高く評価されている。本論文は博士（理学）の学位論文として価値あるものと認められる。主論文に報告されている研究業績を中心に関連研究分野について試問を行い、合格と認めた。