

(続紙 1)

京都大学	博士 (生命科学)	氏名	常峰 悟
論文題目	クロマチンリモデラーによるセントロメアクロマチン境界の制御機構		
(論文内容の要旨)			
<p>真核生物のセントロメアは、有糸分裂期にキネトコアが形成される重要な染色体機能ドメインである。セントロメアにおいてキネトコア構築の基盤となるのはヒストンH3バリエーションのCENP-Aを含むクロマチンである。一方、周囲にはこれを支えるヘテロクロマチンが存在する。キネトコアが正常に機能するためにはこの2つのクロマチン構造の境界が厳密に規定されている必要がある。しかし、ヘテロクロマチンとの境界を制御するメカニズムはほとんどわかっていない。</p> <p>クロマチンリモデラーは、ヌクレオソームの形成・解体・スライディングを通してクロマチン構造を部分的に改変する機能を持ち、クロマチン関連のプロセスで重要な役割を果たしている。分裂酵母を用いた先行研究により、クロマチンリモデラーの1つRSC (Remodeling the Structure of Chromatin) の必須サブユニットであるSfh1の変異株では染色体の安定性が低下することが示され、RSCがセントロメア機能に関与することが予想された。そこで申請者は、RSCがセントロメアにおいて担う機能の検証を行った。</p> <p><i>sfh1</i>変異株の遺伝学的・生化学的解析から、RSCはヘテロクロマチンではなくCENP-A (分裂酵母ホモログCnp1) クロマチンを制御しており、<i>sfh1</i>変異株ではCENP-A^{Cnp1}領域が周囲のヘテロクロマチン領域に異常拡張することが明らかになった。この異常拡張はヘテロクロマチン領域のヒストンアセチル化レベルに依存しており、脱アセチル化酵素の変異によりアセチル化レベルを上昇させると、<i>sfh1</i>変異株でのCENP-A^{Cnp1}領域の異常拡張が解消した。また、異常拡張の解消により染色体分配異常が部分的に回復することから、CENP-A^{Cnp1}の異常拡張が染色体分配異常の原因となることが示唆された。</p> <p>さらに、RSCは境界領域でCENP-A^{Cnp1}ヌクレオソームを排除してヌクレオソーム欠失領域 (Nucleosome-Depleted Region; NDR) の形成を誘導していることが明らかになった。境界領域にはtRNA遺伝子が複数個存在し、tRNA転写に関わるTFIIIC (Transcription Factor IIIIC) がヒストンH3を排除することでNDRを形成しヘテロクロマチンのCENP-A^{Cnp1}クロマチンへの拡張を阻止していることが知られている。RSCによるNDR形成機構は、TFIIICによるNDR形成機構と独立して機能しており、両者が協調してセントロメアクロマチンの境界を維持していることがわかった。また、転写活性遺伝子を<i>sfh1</i>変異株の境界領域に挿入すると挿入領域でのCENP-A^{Cnp1}の異常拡張が解消した。転写は活発なヒストンの交換や局所的な染色体脱凝集によりクロマチン構造中に空間的なギャップを形成すると考えられており、野生株の境界領域ではRSCがその役割を担っていることが示唆された。</p> <p>以上の結果から、RSCは境界領域においてCENP-A^{Cnp1}を排除しNDRを維持することにより、CENP-A^{Cnp1}の局在領域を制限していることが明らかになった。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

セントロメアはキネトコアが形成される染色体領域であり、その構築と機能は染色体分配を制御する。セントロメアの中央には、ヒストンH3のセントロメア特異的バリエントであるCENP-Aで規定されるCENP-Aクロマチンが存在する。一方その近傍には、ヒストンH3のK9メチル化で規定されるヘテロクロマチンが存在する。この2つの異なるクロマチン構造の境界は厳密に決定されているが、その分子機構は不明であった。申請者は、分裂酵母においてクロマチン構造を動的に制御するクロマチンリモデラーRSCに着目し、その必須サブユニットであるSfh1の機能変異株の解析を通して、境界形成におけるクロマチンリモデラーの役割を探究した。まず、*sfh1*変異株ではヒストン脱アセチル化酵素活性に依存したCENP-A^{Cnp1}のペリセントロメア領域への異所性局在が生じる結果、染色体分配異常が誘起されることを示した。さらにRSCとTFIIICのNDR形成誘導能に着眼し、TFIIICがヘテロクロマチンのヒストンH3の排除を介してNDRを形成するのとは対照的に、RSCはCENP-Aクロマチンを標的としたNDR形成を誘導することにより、CENP-A^{Cnp1}のペリセントロメア領域への異所性局在を阻止することを明らかにした。これらの解析結果から、RSCのクロマチンリモデラーとしての機能が境界領域の構築と維持に重要な役割を担うと結論づけた。

本論文は、セントロメア境界領域の制御機構を切り口として異なる機能をもつ染色体機能ドメインを安定に維持する仕組みの一端を解明したものである。セントロメア研究の優れたモデル生物である分裂酵母を活用し、質の高い解析手法によって裏付けられたエビデンスをもとに、境界形成の明快な分子モデルが提唱されている。他方、公聴会では、他の生物種における境界形成機構に関する質疑が行われた。今後、分裂酵母の枠を超えた解析が加わることにより、本研究が提唱する分子モデルの普遍性の検証がさらに進展することが期待される。

以上のように、本論文は生命科学に関する高度で幅広い学識、分子生物学分野における優れた研究能力、そして生命科学の理解・発展に寄与する新しい発見及び概念が示されており、論理的かつ一貫性を持って記述されている。よって博士(生命科学)の学位論文として価値あるものと認めた。更に、令和5年1月27日論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果、合格と認めた。

論文内容の要旨及び審査の結果の要旨は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。特許申請、雑誌掲載等の関係により、学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。(ただし、学位規則第8条の規定により、猶予期間は学位授与日から3ヶ月以内を記入すること。)

要旨公開可能日： _____ 年 _____ 月 _____ 日