

氏 名	なか がわ ひろ み 中 川 浩 実
学 位 の 種 類	博 士 (生命科学)
学 位 記 番 号	生 博 第 17 号
学位授与の日付	平成 16 年 3 月 23 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	生 命 科 学 研 究 科 高 次 生 命 科 学 専 攻
学 位 論 文 題 目	分裂酵母 CENP-B ホモログを中心としたヘテロクロマチンの形成維持機構

論文調査委員 (主 査) 教授 米 原 伸 教授 石 川 冬 木 教授 眞 貝 洋 一

論 文 内 容 の 要 旨

遺伝物質 DNA は生体内ではクロマチンに折り畳まれ、さらに高次構造を形成し、染色体機能構造を形成している。クロマチンには、活発に転写され得る領域（ユークロマチン）と、不活性な領域（ヘテロクロマチン）がある。ヘテロクロマチンは通常、セントロメアやテロメア近傍などの特異的な領域に形成され、染色体機能構造を形成する土台となっている。しかしながらヘテロクロマチン領域の DNA 配列と、ヘテロクロマチン形成機構の相関関係は不明な点が多かった。本研究では、高等動物細胞とよく似たクロマチン構造を持つ分裂酵母をモデル系に用い、*in vitro* でヘテロクロマチン領域の DNA 配列に結合し得るタンパク質（Abp1, Cbh1）及びそのホモログである Cbh2 に着目し、*in vivo* でのヘテロクロマチン形成機構との関連を調べる目的で解析を進めている。これら 3 つのタンパク質は、ヒトセントロメア結合タンパク質 CENP-B のホモログでもある。

in vivo でのクロマチン構造を直接的に示すアッセイ系として、クロマチン免疫沈降法を用い、分裂酵母 CENP-B ホモログのうちの一つである Abp1 は *in vivo* でもセントロメアのヘテロクロマチンに結合していることを明らかにした。また分裂酵母において CENP-B ホモログはどれも、ヘテロクロマチンタンパク質 Swi6 をアッセンブリーさせるのに必用であり、その点で保存された機能を持つことを明らかにした。

ヘテロクロマチン領域ではヒストン H3 が段階的に修飾を受け、最終的に Swi6 がアッセンブルし機能的なヘテロクロマチンが形成されるステップワイズモデルが提唱されている。このモデルでは、ヘテロクロマチンに特徴的なヒストン H3 の 9 番目のリジン残基のメチル化のために、9 番目及び 14 番目のリジン残基の脱アセチル化が不可欠だとされている。CENP-B ホモログがヘテロクロマチンアッセンブリーのどの段階で作用しているのかを調べる目的で、ヒストン H3 の修飾状態を系統的に解析した。その結果、CENP-B ホモログは、その結合領域近傍のヒストン H3 の 9 番目および 14 番目のリジン残基の脱アセチル化を促すのに必用なことを明らかにした。つまり、CENP-B ホモログは、ヘテロクロマチンアッセンブリーの初期の段階で作用している因子であろう。

これらの結果は、ヘテロクロマチン領域の DNA 配列、DNA 結合タンパク質、そしてヘテロクロマチン形成機構が相関関係にあることを示唆している。またこの研究により、未知の点の多いヘテロクロマチン形成機構を系統的に追跡する道が得られた。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

ヘテロクロマチンはセントロメアやテロメアなどの染色体機能構造を形成するだけでなく、ゲノム遺伝情報のエピジェネティックな発現制御にもかかわる重要なクロマチン高次構造である。その形成・維持の分子機構の解析は現在始まったところで未知な点が多い。

申請者は本論文において分裂酵母をモデル系として用いてヒトのセントロメア DNA 結合タンパク質、CENP-B の分裂酵

母ホモログが、ヘテロクロマチン特異的なヒストンの修飾を介して、分裂酵母中でヘテロクロマチンの確立に関わることを明らかにした。申請者は分裂酵母に三種存在する CENP-B ホモログに着目し、クロマチン免疫沈降法を用いてそのうちの一つがセントロメアヘテロクロマチンに結合することを示した。さらにそれぞれの破壊株を作成し、クロマチン免疫沈降法を駆使して詳細に解析をおこなった。その結果、これらの遺伝子がセントロメアヘテロクロマチン形成に重複した機能を持つこと、さらに、ヘテロクロマチンに特異的な修飾、特にその形成初期に起こると考えられるヒストン H3 の脱アセチル化を促している可能性を明確に示した。つまり、CENP-B ホモログはその結合領域近傍のヘテロクロマチンの形成を促し、その局在決定にかかわっていることになる。この結果は、特殊なヘテロクロマチン構造をもつ出芽酵母を除けば、ヘテロクロマチンの局在決定に関わる因子の最初の報告である。本論文において、CENP-B ホモログのみでヘテロクロマチン形成に十分であるかどうか分からないが、このタンパク質が必要であることは明確に示されている。ヒト、マウスの CENP-B はキネトコア形成に関わることが示唆されているが、その機能はまだ完全に理解されていない。本論文の結果はその CENP-B の機能を探る上でも重要な知見と言えよう。その実験は論理的に積み上げられており、実験データのクオリティも十分に高く信頼できる。得られた結論も現在急速に進展しつつあるクロマチン高次構造の研究に貢献するものと思われた。

以上より本論文は博士（生命科学）の学位論文として価値ある物と認めた。

また、平成16年1月27日論文公聴会を開催し、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。