

(論文内容の要旨)

クロマチンはヒストンテールの化学修飾やクロマチン関連因子といった様々な相互因子によって転写の活発なユークロマチン領域、転写が不活発なヘテロクロマチン領域のように、機能ドメインごとに核内に配置されていると考えられている。発現制御に関わるクロマチン構造は、細胞分裂後の2つの娘細胞に正確に受け継がれなければならない。ゲノム DNA を複製する際にはその領域に固有のクロマチン構造をも複製する必要があり、クロマチン複製には複製後のヌクレオソーム形成から、より高次のクロマチン構造形成の問題まで含まれる。

CAF-1 (Chromatin assembly factor 1) は、3 つのサブユニット (p150, p60, p48) から構成され、酵母からヒトに至るまでよく保存されている。CAF-1 は新規に合成されたコアヒストン H3- H4 を新生 DNA 上にアセンブリーさせるヒストンシャペロンである。CAF-1 は DNA ポリメラーゼ補助因子である PCNA (Proliferating cell nuclear antigen) と結合することにより、新生 DNA 特異的にクロマチンアセンブリーを行うと考えられている。クロマチンアセンブリーの機構は、エピジェネティックな遺伝子情報の維持・伝達、遺伝子発現制御など様々な生体内イベントに関与しており、この機構の解明は生命現象を理解する上でも非常に重要である。

本実験では分裂酵母をモデル生物として用い CAF-1 の機能解析を行った。その結果、CAF-1 の3つのサブユニットと高い相同性をもつ遺伝子を分裂酵母の中で単離・同定した。そして、それらが複合体を形成し、かつ、S 期に PCNA と結合する事を見いだした。CAF-1 の欠損により、セントロメア・mating locus でのヘテロクロマチンが脱抑制をうけ、かつ、それらの領域での Swi6 の局在が減少することを明らかにした。重要な事に、CAF-1 変異株で meta-stable ヘテロクロマチン構造が揺らぎやすくなっている事が分かり、これは CAF-1 がヘテロクロマチンの維持に機能していることを示す。複製前に Swi6 が一時的にヘテロクロマチン上から脱落し、その脱落した Swi6 と CAF-1 が結合していた。そして、CAF-1 が複製過程において複製中のヘテロクロマチン上に局在する事を明らかにした。以上の結果は、複製過程において、CAF-1 が複製されたヘテロクロマチン上に Swi6/HP1 を効率的にリクルートする事により、ヘテロクロマチンの維持を行っている可能性を示唆するものである。

(論文審査の結果の要旨)

クロマチン高次構造はエピジェネティックな遺伝子発現制御に重要な役割を果たしている。したがって、クロマチン高次構造が染色体複製時にいかに維持されるかということは、非常に重要な問題である。しかしながら、その分子機構については、まだほとんど理解されていない。

本研究は複製後の娘 DNA 上でクロマチンアセンブリーをおこなうヒストンシャペロン CAF1 に着目し、そのクロマチン構造維持における機能を、高等真核細胞との間で保存されかつ単純なクロマチン構造をもつ分裂酵母を用いて詳細に解析したものである。申請者は分裂酵母の CAF1 の 3 つのサブユニットを同定した。そして、その遺伝子の破壊によりヘテロクロマチン、ユークロマチン双方の維持が不安定になること、とくにヘテロクロマチンへの影響が大きいことを見いだした。つまり、CAF1 はクロマチン高次構造の維持、特にヘテロクロマチンの維持に深く関与することが明らかとなった。さらに、ヘテロクロマチン複製時の CAF1 およびヘテロクロマチン蛋白質 Swi6 の動態を詳細に解析した結果から、CAF1 が複製前にヘテロクロマチンから遊離した Swi6 と結合し、複製後のヘテロクロマチン領域に Swi6 をリクルートすることによりヘテロクロマチン再構築に寄与するという分子機構モデルを提唱した。

CAF1 については、ほ乳類細胞などを用いた解析からヘテロクロマチン維持にかかわることが示唆されていたが、そのほとんどが状況証拠であり、その分子機構を直接示すような実験はおこなわれていなかった。本研究はヘテロクロマチン維持における CAF1 の重要性を直接示すと共に、未知であった CAF1 機能の分子機構を解き明かすものであり、この分野での研究に寄与するものである。

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ものと認めた。

また、平成 20 年 8 月 8 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。