

氏 名	まる やま たけ し 丸 山 雄 史
学位(専攻分野)	博 士 (生命科学)
学 位 記 番 号	生 博 第 92 号
学位授与の日付	平 成 19 年 1 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 統 合 生 命 科 学 専 攻
学 位 論 文 題 目	Histone H2B の異なる非ヘリカル領域における変異がセントロメア機能・染色体分配・遺伝子サイレンシング・モノユビキチン化修飾に与える影響
論文調査委員	(主 査) 教 授 石 川 冬 木 教 授 松 本 智 裕 教 授 荒 木 崇

論 文 内 容 の 要 旨

生命現象の根幹たる遺伝情報を正確に次世代へ伝達・継承することは、生物にとって最も重要な課題である。真核生物では、染色体に含まれるゲノム DNA のほとんどは、ヌクレオソーム構造と呼ばれるヒストンタンパク質で構成された複合体に巻き取られた構造をとり、クロマチンとして核の中に収納されている。クロマチンはただゲノム DNA をコンパクトに収納するだけではなく、その構造の制御を通じてゲノム DNA 転写・複製・修復といった核内現象や、分裂期における染色体の凝縮や分配といった様々な細胞の主要な機能に関与する。

染色体クロマチンの主要な構成因子であり、進化上非常に高度に保存されたヒストンタンパク質が備える分子機能のさらなる理解を目標として、分裂酵母 (*Schizosaccharomyces pombe*) を用いて、HistoneH2B の遺伝情報の正確な維持・継承に関わる機能について解析を行った。分裂酵母ゲノムにおけるヒストン遺伝子のコピー数は、高等生物と比較して相対的に少なく、HistoneH3 と H4 の遺伝子の対が 3 対、HistoneH2A と H2B の遺伝子の対が 1 対、孤立した HistoneH2A 遺伝子が 1 個存在するのみである。そのコピー数の少なさのために、遺伝学的なアプローチによる HistoneH2B の分子機能に関する研究が可能となった。

本研究は、分裂酵母 HistoneH2B の温度感受性変異体の単離と、その表現型解析を中心に進められた。その結果、HistoneH2B 内の互いに異なる非ヘリカル領域に生じた変異が、異なる細胞機能の異常につながることを明らかにした。

HistoneH2A, H2B をコードする遺伝子 *hta1*⁺, *htb1*⁺ の増量によって制限温度における生育が回復する温度感受性変異株のスクリーニングなどを通じて、分裂酵母 HistoneH2B をコードする唯一の遺伝子 *htb1* にアミノ酸置換変異を持つ温度感受性変異体を 3 アリル同定した。HistoneH2B の N 末テイル領域の付け根に変異を持つ *htb1-442*(E34K) 変異体は、弱い温度感受性が見出されたのみであったが、DNA と相互作用する L1 loop ループ領域上に変異を持つ *htb1-72*(G52D) 変異体は、ヘテロクロマチン領域において転写の脱抑制を示し、anaphase において高頻度のラギングクロモソーム表現型を示した。一方で α 3helix と α Chelix の繋ぎ目領域上に変異を持つ *htb1-223*(P102L) 変異体では、セントロメア特異的クロマチン構造の異常と、分裂期における染色体不均等分配が見られた。また、プロテアソーム非依存的なモノユビキチン化 HistoneH2B レベルの減退も見出された。一連の解析により、HistoneH2B が正常なセントロメア機能に重要な役割を果たしていることが明らかとなった。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

ヒストンは、クロマチンを構成する主要蛋白質として、ゲノム DNA 機能の制御に重要な役割を果たす。しかし、ヒストンをコードする遺伝子は一般的にゲノム内に多コピー存在することから、従来、その遺伝学的解析は困難であった。本研究において申請者は、分裂酵母では例外的にヒストン H2B が 1 コピーの遺伝子によってコードされていることを利用して、ヒストン H2B の遺伝学的解析を行った。

本論文「序論」においては、クロマチン構造の概説と、それがセントロメア機能などの生命現象にいかに関与するのかを述べた後、ヒストンの遺伝学的研究における分裂酵母の有用性を述べている。

「結果」では、本研究の内容を詳述している。まず申請者は、所属する研究室で既に得られた分裂酵母温度感受性株ライブラリーの中から、ヒストン H2A あるいは H2B 遺伝子によって温度感受性が相補される株を求め、ts72, ts223 および ts442 の3株がヒストン H2B 遺伝子に変異をもつ温度感受性株であることを明らかにした。次に、特に ts72 と ts223 について詳細に検討を行った。ts223 は、制限温度下で高頻度で核の不均等分配が見られ、セントロメア中央領域のクロマチン構造の異常、CENP-A の局在異常、いくつかの動原体蛋白質遺伝子変異との合成致死性を示した。一方、ts72 は、ヘテロクロマチンのサイレンシングの脱抑制、低温条件下での分裂期アナ期におけるラギング染色体頻度の増加を示した。また、両者においてモノユビキチン化型ヒストン H2B の減少が観察された。

「考察」では、以上の実験結果から明らかになったことをまとめ、それから結論されること、そして、今後の研究によって検証されるべき仮説を述べている。まず、本研究より、分裂酵母を用いることでヒストン遺伝子の変異体分離が可能であり、遺伝学的研究に大きな貢献をすることが議論されている。次に、得られた温度感受性変異体の変異部位がヒストン H2B の立体構造上で占める位置と生化学的・遺伝学的実験の結果から、変異体の表現型を説明する分子機構の仮説が議論されている。最後に、今回明らかとなったヒストン H2B のモノユビキチン化の分子機構とその意義について議論が行われている。

「材料と方法」では、本研究で行われた実験の方法が詳述されている。

以上要約すると、本研究は、分裂酵母の特徴をいかしてヒストン遺伝子の遺伝学的研究に端緒をつけたものである。さらに、実際に3つの温度感受性ヒストン H2B 株を単離し、その表現型を解析すると同時に、分子機構を明らかにしようとした先駆的な研究であり、その成果はクロマチンの遺伝学的研究に寄与するところが大い。よって、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。

なお、平成18年10月31日、論文内容とそれに関連した分野にわたり口頭試問を行った結果、博士（生命科学）の学位を授与される学力が十分にあるものと認められた。