

(論文内容の要旨)

分裂酵母のセントロメア周縁部に存在するヘテロクロマチンは、細胞分裂における染色体分配時に姉妹染色体が正確に対合するために必要な領域である。ヘテロクロマチン領域ではヒストン H3 の 9 番目のリジン(H3K9)がメチル化修飾を受けており、その修飾を認識してヘテロクロマチンタンパク質 HP1 ファミリー分子 (Swi6・Chp2) が結合し、それによってヘテロクロマチンの拡張を行うヒストン脱アセチル化酵素や、姉妹染色分体の接着に必要なコヒーシスがリクルートされると考えられている。

申請者は、新たに開発した逆遺伝学的な手法で分裂酵母のヘテロクロマチンに異常を引き起こす変異体のスクリーニングを行い、casein kinase II (CKII) complex の regulatory subunit である *ckb1* 変異株を単離した。 $\Delta ckb1$ 株においては、ヘテロクロマチンの転写抑制とヘテロクロマチンの拡張に異常が見られ、さらに詳細な解析を行った結果、CKII complex とヘテロクロマチンタンパク質である Swi6 が結合することを見いだした。 $\Delta ckb1$ 株において、Swi6 と Chp2 のウェスタンブロッティングを行うとバンドシフトが見られることから、Swi6 と Chp2 は CKII によってリン酸化されている可能性が示唆され、実際に Swi6、Chp2 を精製し脱リン酸化処理したものでウェスタンブロッティングを行うと、 $\Delta ckb1$ 株で見られたものと同じようなバンドシフトが確認された。そこで Swi6、Chp2 に複数存在する CKII の予測リン酸化サイトをアラニン置換した株を作成したところ、ウェスタンブロッティングにおいて $\Delta ckb1$ で見られたような Swi6 のバンドシフトが確認され、ヘテロクロマチン領域へ挿入した遺伝子のサイレンシングの脱抑制が確認された。また ChIP 法を用いて Swi6 のヘテロクロマチン領域の局在を野生株と $\Delta ckb1$ 株で比較した結果、Swi6 の CKII によるリン酸化は Swi6 そのもののクロマチン局在には必須でなく、Swi6 によってリクルートされる HDAC 複合体 SHREC のヘテロクロマチン領域への局在に必要である可能性が示唆された。実際に $\Delta ckb1$ 株、Swi6 リン酸化部位置換株の表現型は SHREC の変異体に類似しており、ヘテロクロマチン上の SHREC の局在が減少していることを確認した。

(論文審査の結果の要旨)

ヘテロクロマチンは従来不活性なクロマチン構造として認識されていたが、最近の研究の結果、このクロマチン構造が想像以上にダイナミックかつ複雑な構造体であること、さらに核内で転写抑制、姉妹染色体接着の確立など様々な機能を果たしていることが徐々に明らかになりつつある。特にその種々の機能はヘテロクロマチンタンパク質 HP1 ファミリー分子が様々なエフェクター因子をヘテロクロマチンに呼び込むことで担われていると考えられてきたが、その制御の分子機構は未知であった。

申請者はクロマチン研究の優れたモデル生物である分裂酵母を用いてヘテロクロマチン因子の解析をおこなった。まず、タンパク質の細胞内局在などのデータベース上の種々の情報に基づく逆遺伝学的手法を独自に開発し、ヘテロクロマチンに関与すると考えられる候補遺伝子を抽出した。次に、それらの遺伝子を系統的に破壊し、ヘテロクロマチンへの関与について評価をおこなった。その結果ヘテロクロマチン形成あるいは機能に必要であると思われる 10 個の新規遺伝子を同定した。このことはこの手法が新規遺伝子同定の有効な手段であることを示している。

これらの遺伝子のうち破壊株の示す表現型が強かった *ckb1* 遺伝子について、さらに詳細な解析を進めた。*ckb1* 遺伝子破壊株ではヘテロクロマチン構造そのものは維持されるが、転写抑制能が失われていた。*ckb1* はタンパク質キナーゼの一つ casein kinase II (CKII) の制御サブユニットをコードしている。解析の結果、分裂酵母の HP1 ホモログである Swi6, Chp2 が CKII のリン酸化の標的となることを見いだした。さらに Swi6 の CKII によるリン酸化が転写抑制に必要な SHREC とよばれる複合体のヘテロクロマチン結合に必要なことを明らかにした。一方でこの Swi6 リン酸化はヘテロクロマチンでの姉妹染色体接着にはほとんど影響を及ぼさない。つまり CKII によるリン酸化はヘテロクロマチン機能を differential に制御しうることになる。

以上の結果はいままで不明であったヘテロクロマチン機能の制御機構の一端を明らかにするもので、他のヘテロクロマチン機能の制御機構や他の生物種での研究の展開が期待できる。また、申請者が用いたデータベースに基づく逆遺伝学的手法は、各種生物、特に酵母など単純なモデル生物でのデータベースが急速に充実しつつある現状を考えると、ヘテロクロマチンにとどまらず、各種細胞内現象の新規関連因子を探索するための有効な方法となると思われる。

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 21 年 1 月 29 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。