

氏 名	ふじ 藤 田 陽 太
学位(専攻分野)	博 士 (生命科学)
学 位 記 番 号	論 生 博 第 1 号
学位授与の日付	平 成 19 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当
学位論文題目	CENP-A をセントロメアに局在化するヒト Mis18 複合体のプライミング機能
論文調査委員	(主 査) 教 授 上 村 匡 教 授 松 本 智 裕 教 授 荒 木 崇

論 文 内 容 の 要 旨

細胞の遺伝情報を子孫に正確に伝承して継承するためには S 期に DNA を正確に複製し、M 期に姉妹染色分体を 2 つの娘細胞に均等に分配することが必須である。染色体の一領域であるセントロメアはヒストン H3 バリエントである CENP-A を含む特殊なクロマチン構造を有し M 期にスピンドルと直接相互作用して均等な染色体分配を保証している。しかしながら CENP-A のセントロメア局在化機構は未だ明らかでない。

申請者らは分裂酵母を用いて染色体均等分配に必要な新規セントロメアタンパク質 Mis14-Mis18 を同定した (Hayashi et al., 2004)。本研究では GFP 標識した Mis18 の細胞内局在を観察した結果、Mis18 は間期細胞のセントロメアに局在し、M 期前期、中期には一過性にセントロメア/動原体から消失し M 期後期もしくは終期にセントロメアに再局在する特徴的な挙動を示した。また Mis18 のセントロメア局在は Mis18 の機能に必要であり、Mis18 は Mis16 と複合体を形成して CENP-A のセントロメア局在化経路の最上流で機能していることも明らかにした。

BLAST 検索により分裂酵母 Mis18 と相同なタンパク質がヒトで 2 種類 (hMis18 α , hMis18 β) 存在することが分かった。次にマスマスプロトメトリにより hMis18 と物理的に相互作用するタンパク質 M18BP1 (Mis18 binding protein 1) を同定し、hMis18 α , hMis18 β , M18BP1 の 3 者が複合体を形成することを見出した。hMis18 複合体の細胞内局在を HeLa 細胞で観察すると、hMis18 複合体は M 期中期のセントロメアには局在しないが M 期後期もしくは終期から G1 期早期にかけてセントロメア局在するという特徴的な挙動を示した。hMis18 複合体の機能を調べるために、HeLa 細胞を用いて siRNA による hMis18 α ノックダウンを行ったところ、siRNA 後には新規合成された CENP-A がセントロメアへ局在化せず、M 期染色体が M 期プレートに整列しない欠損や DNA ブリッジング、微小核形成といった M 期欠損を示した。驚いたことに、この hMis18 α ノックダウンによる新規合成 CENP-A の局在異常は Tricostatin A (ヒストン脱アセチル化酵素阻害剤) によって抑制された。また、hMis18 α には保存された CxxC アミノ酸配列が存在するが、この CxxC アミノ酸配列は hMis18 α のセントロメア局在、および機能 (新規合成 CENP-A のセントロメア局在化) に必須であることを明らかにした。以上の結果は、Mis18 複合体が細胞周期依存的にセントロメア領域のヒストンをアセチル化することにより CENP-A のセントロメア局在化を前もって準備している可能性を示唆する。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

細胞の遺伝情報は S 期での DNA の正確な複製、そして M 期における姉妹染色分体の均等分配を経て、娘細胞に正確に継承される。この均等な染色体分配は、セントロメアがヒストン H3 バリエント (CENP-A) を含む特殊なクロマチン構造を形成し、M 期にスピンドルと直接相互作用することで保証されている。しかしながらその CENP-A のセントロメア局在化機構は未だ明らかでない。

申請者らは分裂酵母を用いて、染色体均等分配に必要な新規セントロメアタンパク質 Mis14-Mis18 を同定した。本研究では Mis18 の細胞内局在を観察した結果、Mis18 が間期細胞のセントロメアに局在し、M 期前期、中期には一過性にセン

トロメア／動原体から消失し M 期後期もしくは終期にセントロメアに再局在する特徴的な挙動を示した。また Mis18 のセントロメア局在が Mis18 の機能に必要であり、Mis18 は Mis16 と複合体を形成して CENP-A のセントロメア局在化経路の最上流で機能していることを明らかにした。

さらに申請者は分裂酵母 Mis18 と相同なタンパク質がヒトで 2 種類 (hMis18 α , hMis18 β) 存在することを発見した。そして hMis18 と物理的に相互作用するタンパク質 M18BP1 (*Mis18 binding protein 1*) を同定し、hMis18 α , hMis18 β , M18BP1 の 3 者が複合体を形成することを見出した。hMis18 複合体の細胞内局在を HeLa 細胞で観察すると、hMis18 複合体は M 期中期のセントロメアには局在しないが M 期後期もしくは終期から G1 期早期にかけてセントロメア局在するという特徴的な挙動を示した。hMis18 α の発現レベルを低下させると、新規合成された CENP-A がセントロメアへ局在化せず、M 期染色体が M 期プレートに整列しない欠損や DNA ブリッジング、微小核形成といった M 期欠損を示した。興味深いことに、この新規合成 CENP-A の局在異常は、Tricostatin A (ヒストン脱アセチル化酵素阻害剤) によって抑制された。以上の結果は、Mis18 複合体が細胞周期依存的にセントロメアヒストンをアセチル化することにより CENP-A のセントロメア局在化を前もって準備している可能性を示唆する。以上の発見は、遺伝情報を子孫に正確に伝承する機構の解明に極めて重要な貢献をした。

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。

平成19年2月15日に論文内容とそれに関連した試問の結果、合格と認めた。