

氏 名	はやし 林 たけ 武 し 志
学位(専攻分野)	博 士 (生命科学)
学 位 記 番 号	生 博 第 26 号
学位授与の日付	平 成 17 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 統 合 生 命 科 学 専 攻
学 位 論 文 題 目	染色体の均等分配に必須であるセントロメアタンパク質群の局在化経路

論文調査委員	(主 査) 教 授 柳 田 充 弘	教 授 石 川 冬 木	教 授 松 本 智 裕
--------	----------------------	-------------	-------------

論 文 内 容 の 要 旨

細胞がその遺伝情報を子孫の細胞へと正確に伝達するためには、S 期に染色体 DNA を正確に複製するだけでなく、M 期に姉妹染色分体を 2 つの娘細胞へ均等に分配することが極めて重要である。セントロメアは均等な染色体分配に必須であり、特殊なクロマチン構造をしている。本研究では分裂酵母をモデル系として、セントロメア特異的クロマチンが構築される機構の理解を目指した。

新規セントロメアタンパク質を同定する目的で、分裂酵母温度感受性変異株の大規模なスクリーニングを行った。その際、既知のセントロメアタンパク質の遺伝子変異に共通する大小核表現型を指標にした。大小核表現型とは不均等な染色体分配により大小異なる大きさの姉妹核を生成する表現型である。このスクリーニングから分離された変異株の解析から、5 つの新規セントロメアタンパク質 Mis14~Mis18 を同定した。既知のセントロメアタンパク質 SpCENP-A, Mis6, Mis12 も含め、セントロメアタンパク質の間に見られる関係を網羅的に調べた結果、セントロメアタンパク質は 3 種類の複合体を形成することが分かった。Mis12-Mis14, Mis6-Mis15-Mis17, Mis16-Mis18 の 3 種類である。セントロメア局在の依存性を調べた結果からは、局在化には 2 つの独立した経路が存在することが明らかとなった。1 つは Mis12, Mis14 の経路であり、もう 1 つは SpCENP-A, Mis6, Mis15, Mis16, Mis17, Mis18 の経路である。どちらの経路もセントロメアクロマチンの構築に必須であったが、CENP-A はセントロメア特異的なヒストン H3 バリエーションで、セントロメア特異的なヌクレオソームを形成すると考えられており、CENP-A のセントロメア局在化メカニズムを理解することは大変重要である。Mis16-Mis18 複合体は SpCENP-A 局在化経路の最上流で機能することが分かった。また、Mis16 類似タンパク質 RbAp48, RbAp46 が HeLa 細胞においても CENP-A のセントロメア局在に必要であることを示し、Mis16 タンパク質の CENP-A 局在化因子としての機能が分裂酵母だけでなくヒトにおいても保存されていることが明らかとなった。また、Mis16, Mis18 タンパク質が SpCENP-A の局在するセントロメア中央領域のヒストンを低アセチル化状態に維持するのに必要であることも見出した。

これらの結果をもとに、セントロメアタンパク質の局在化経路について、特に Mis16/RbAp48/46 および Mis18 が CENP-A をどのようにセントロメアに局在させているのかについて考察する。Mis16-Mis18 複合体が CENP-A の局在化およびセントロメア領域のヒストンの低アセチル化状態の維持に必要なことから、Mis16-Mis18 複合体を介したセントロメア領域のヒストン脱アセチル化が CENP-A のセントロメア局在化に重要なかもしれない。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

細胞がその遺伝情報を子孫の細胞へと正確に伝達するためには、S 期に染色体 DNA を正確に複製するだけでなく、M 期に姉妹染色分体を 2 つの娘細胞へ均等に分配することが極めて重要である。セントロメアは均等な染色体分配に必須であり、特殊なクロマチン構造をしている。しかしながらこのセントロメア特異的クロマチンの構築に関わる因子の理解はほと

んど進んでいなかった。申請者は細胞学的なスクリーニングを通してセントロメア特異的クロマチンの構築に必要な新規セントロメアタンパク質 Mis14~Mis18 を同定し、さらに解析を進めることで既知のセントロメアタンパク質 SpCENP-A, Mis6, Mis12 も含めセントロメアタンパク質の間に見られる関係を明らかにした。まず、セントロメアタンパク質は3種類の複合体を形成することが分かった。Mis12-Mis14, Mis6-Mis15-Mis17, Mis16-Mis18 の3種類である。また、セントロメア局在の依存性を調べた結果からは、局在化には2つの独立した経路が存在することが明らかとなった。1つは Mis12, Mis14 の経路であり、もう1つは SpCENP-A, Mis6, Mis15, Mis16, Mis17, Mis18 の経路である。CENP-A はセントロメア特異的なヒストン H3 バリエーションで、セントロメア特異的なヌクレオソームを形成すると考えられており、CENP-A のセントロメア局在化メカニズムを理解することは大変重要である。Mis16-Mis18 複合体は SpCENP-A 局在化経路の最上流で機能することが分かった。また、Mis16 類似タンパク質 RbAp48, RbAp46 が HeLa 細胞においても CENP-A のセントロメア局在に必要であることを示し、Mis16 タンパク質の CENP-A 局在化因子としての機能が分裂酵母だけでなくヒトにおいても保存されていることが明らかとなった。ヒトにおける CENP-A 局在化因子はこれまで報告されておらず、Mis16/RbAp48/46 が進化的に保存された CENP-A 局在化因子であることを発見したことはこの分野の発展にとって極めて重要なものである。さらに申請者は Mis16, Mis18 タンパク質が、SpCENP-A の局在するセントロメア中央領域のヒストンを低アセチル化状態に維持するのに必要であることも見出した。この発見は CENP-A のセントロメア局在化にセントロメア中央領域のヒストン脱アセチル化が関与している可能性を示唆するものであり、CENP-A 局在化の分子メカニズムを理解する上で重要な手がかりになると考えられる。本論文の結果は、セントロメアクロマチンの研究に大きな進展を与えるものであり高く評価できる。

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。なお、平成17年2月2日に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。