

別紙 4

報告番号	※	甲	第	号
------	---	---	---	---

主 論 文 の 要 旨

論文題目 構成学的手法によるセントロメアクロマチンの形成・
維持機構に関わる因子の同定と解析

氏 名 庄野 暢晃

論 文 内 容 の 要 旨

セントロメアは遺伝情報の安定な継承に関する染色体上の機能領域である。分裂期染色体のセントロメア領域には 100 種類を超えるタンパク質因子が集合する。セントロメアの外側にはキネトコアと呼ばれる構造体が形成され、微小管との相互作用により姉妹染色分体を娘細胞へと正確に分配する。

ヒトセントロメアは、 α -サテライト (アルフォイド) と呼ばれる巨大な繰り返し DNA 領域に形成され。ここにはセントロメア特異的なクロマチンが集合する。セントロメアクロマチンは、ヒストン H3 バリエントである CENP-A を含んだヌクレオソームからなり、これがセントロメア/キネトコアタンパク質群の集合の基盤となる。この CENP-A ヌクレオソームは、通常ヒストン H3 を含むヌクレオソームとは異なり、DNA 複製時には補充されず、集合量が半減したまま分裂期に入り、分裂期が終了する G1 初期に補充される。

Mis18 複合体 (Mis18 α /Mis18 β /M18BP1) を含むいくつかの因子と CENP-A 特異的ヒストンシャペロンである HJURP が、この CENP-A ヌクレオソームの補充に関ることが報告されている。さらに、これらの G1 初期における CENP-A の補充に関する因子に加えて、新たに補充された CENP-A の安定化を行うと考えられる MgcRacGAP やリモデリング因子 RSF1 なども報告されている。

また、近年の研究によって、クロマチン状態も CENP-A 集合に影響することが示されている。所属研究室では、これまでに、テトラサイクリンオペレーター (tetO) 配列を含んだ合成アルフォイド DNA (alphoid^{tetO}) を培養細胞に導入することにより、CENP-A が集合し、機能的なセントロメアを獲得したヒト人工染色体 (alphoid^{tetO}-HAC) を開発した。さらに、導入 alphoid^{tetO} が染色体腕の異所的部位に挿入され、CENP-A がこの部位に集合していない細胞株も作成した。これらの alphoid^{tetO}-HAC や挿入された異所的部位にテトラサイクリンリプレッサー (tetR) 融合タンパク質をテザリングすることにより、

CENP-A 集合維持に関するクロマチン状態が調べられた。その結果、ヒストンメチル化酵素のテザリングによるヒストン H3 の 9 番目のリジンのトリメチル化 (H3K9me3) を介したヘテロクロマチンの誘導は、HAC セントロメアへの CENP-A 集合を劇的に減少させた。対照的に、転写を活性化するヒストンアセチル化酵素である p300 や PCAF の触媒ドメインのテザリングは HAC 上、および異所的挿入部位で、HA タグ付き CENP-A の集合を引き起こした。

一方、これまでに多くのセントロメア／キネトコア因子が報告されているが、それらの因子や多様なクロマチンの修飾状態が CENP-A 集合に対してどのように関るのかについては十分には調べられていない。そこで、本研究では多数のセントロメア／キネトコア因子およびクロマチン修飾因子のテトラサイクリンリプレッサー (tetR) 融合タンパク質をテザリングすることにより、HAC セントロメア上での CENP-A 集合の増減を調べた。この解析によって、セントロメア上の CENP-A 集合を増加させる因子が多数同定された。さらに、同様の実験を CENP-A 集合のない異所的部位上でも行い、新規に CENP-A 集合を引き起こす因子も多数同定した。最終的に、これらの解析の結果から CENP-A 集合に影響を与える因子を 4 つのクラスに分類した。このクラス分けは CENP-A 集合に関する分子機構やクロマチン修飾、ヒストン交換反応を反映したものであり、今後の機能解析の指針となると期待される。

興味深いことに、KMN network と呼ばれるキネトコア構造に重要な因子群が異所的部位上に新規 CENP-A 集合を引き起こすクラスに分類された。この結果は、キネトコア集合と CENP-A 集合の結びつきを強く示唆している。このメカニズムを調べた結果、これらのキネトコア構造因子が CENP-C を集合させ、さらに CENP-C が Mis18 複合体の構成因子である M18BP1 を集合させることで新規 CENP-A 集合を引き起こすことが明らかになった。さらに、CENP-I も同様に M18BP1 を集合させ、結果的に、CENP-C の下流で M18BP1 集合を補強していることを発見した。これらの本研究から、CENP-C と CENP-I はセントロメアの「機能」に必要なキネトコア集合とセントロメアの維持／記憶に必要な CENP-A クロマチンの集合（「エピジェネティクス」）を結びつける要となる因子であることが示された。