

論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※ 甲 第 号
------	---------

氏 名 庄野 暢晃

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

論文審査担当者

主 査	名古屋大学大学院理学研究科	教授 理学博士 本間 道夫
委 員	名古屋大学大学院理学研究科	教授 工学博士 松本 邦弘
委 員	名古屋大学大学院理学研究科	教授 博士(理学) 五島 剛太
委 員	かずさDNA研究所	室長 理学博士 舛本 寛

論文審査の結果の要旨

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、通常のヒストン 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す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、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。これまでに、テトラサイクリンオペレーター(tetO)配列を挿入した合成アルフォイド 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)が開発されている。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されている。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ることが明らかにされた。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 の集合を引き起こすことが報告されている。

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するかについては十分には解明が進んでいない。そこで、本研究では多様なセントロメア/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 集合の増減に与える影響について解析した。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 集合のない異所的挿入部位上でも行い、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の大筋を明らかにすると共に、クロマチン修飾やヒストン交換反応の関りについての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、本研究により、KMN network と呼ばれるキネトコア構造形成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成因子が 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 を集合させる結果が得られ、CENP-C の下流で CENP-I も M18BP1 の集合を補強していることを発見した。

以上のように、申請者は 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を示し、セントロメアの形成・維持機構解明に大きく貢献した。よって、申請者は博士(理学)の学位を授与される十分な資格があるものと認められる。