

論文審査の結果の要旨

氏名 千村 崇彦

本論文での解析結果は3章からなり、第1章ではCIAのヒストンシャペロン活性の種間保存性、第2章ではCIAと転写開始因子TFIIDとの機能的相互作用、第3章ではCIAによる転写制御の特異性について述べている。

真核生物の染色体DNAはヒストンと結合しヌクレオソーム構造が基本単位である。ヌクレオソーム構造は遺伝情報を読み出す転写反応を阻害する。論文提出者は転写開始反応において中心的な役割を果たすTFIIDと相互作用する因子の中で、ヒストンシャペロンCIAに着目し解析を行った。ヒストンに対するアセチル化などの化学修飾が主流であったこれまでのクロマチン転写反応の制御機構研究の中で、ヒストンに対する相互作用活性、ヌクレオソーム構造変換というダイナミックな活性を有するヒストンシャペロンに着目して解析し、CIAが*in vivo*における転写制御反応においてTFIIDと機能的な相互作用を見出し、転写開始因子とクロマチン構造変換因子との関係を世界に先駆けて明らかにした。

第1章：CIAの種間で保存された機能を担うドメインの特定

CIAの1次構造がヒトから酵母まで保存されていることから、出芽酵母対応因子であるCia1pのヒストンシャペロン活性を検定し、見出した。さらに、Cia1pの領域欠損変異蛋白質を種々用意し、種間で高度に保存された領域によってヒストンシャペロン活性が担われていることを示した。細胞内における染色体構造変換活性検定系において、領域欠損変異蛋白質に関してその活性を野生型蛋白質と比較したところ、ヒストンシャペロン活性を有する領域と一致した。この解析でCIAのヒストンシャペロン活性には酸性アミノ酸に富んだ領域が必須ではなかったことから、酸性アミノ酸領域がヒストンシャペロン活性に必須であるというこれまでの概念を覆すことになり、他のヒストンシャペロンに関する今までの知見の再検討を促す知見となった。

第2章：CIAとTFIIDとの機能的相互作用の検討

ヒトCIAが転写開始因子TFIIDのサブユニットCCG1のプロモドメインと相互作用する因子として酵母ツーハイブリッド法により単離された経緯から、その相互作用が細胞内の転写制御反応に果たす役割を解析した。ヒトCIAとヒトCCG1プロモドメインとの相互作用が特異的で、かつ出芽酵母の対応因子間でも相互作用が保存されていることを示した。CIA1遺伝子破壊株を用いた解析によりD)TFIIDの機能欠損の際に生じる転写制御の欠陥

が CIA1 の破壊によっても引き起こされること、II) しかもこの欠陥が TFIID の特定のサブユニットによって抑圧されるという知見から、転写制御反応における CIA と TFIID との機能的関連性を見出した。これらの知見は転写開始因子とヌクレオソーム構造変換因子との直接的かつ機能的相互作用を示した最初の知見であり、転写開始反応におけるヌクレオソーム構造変換に関する研究において新しい分子機構を提示するものである。このことは DNA 複製等、ヌクレオソームを鋳型とするすべての反応において適用可能な概念、即ちヒストンシャペロンと反応系開始因子との機能的相互作用という概念になると考えられる。

第3章：CIA1 の native な遺伝子の転写制御反応への関与の検討

出芽酵母 Cia1p の細胞内での機能に重点を置いて解析した。CIA1 破壊株は、致死ではないが細胞増殖に欠陥を示すことから、Cia1p が機能する細胞周期の時期を FACS 解析及び CIA1 遺伝子の細胞周期における発現時期の解析から S 期進行への関与を特定し、S 期進行を阻害する薬剤ヒドロキシウレア (HU) に対する感受性を見出した。さらに HU により誘導されるある種の遺伝子の活性化に欠陥のあることを見出した。これらの解析により、クロマチンによる転写抑制の解除においてヒストンシャペロンが重要な役割を果たすという機構を考える基礎を与えた。

本論文の第1章は CIA 分子の機能性やドメイン構造に着目した解析、第2章は CIA と転写開始因子 TFIID との機能的相互作用に着目した解析となり、反応機構論のレベルで議論している。さらに第3章では第1章、第2章で示唆された CIA の作用機序に関する性質に基づき、細胞周期というより大きな反応系の中でその意義を解析、検証しており、本論文では分子の性質、分子間相互作用の意義、反応系での役割といったあらゆる階層での解析を通して転写開始因子 TFIID と CIA との相互作用の役割を示した研究となっている。

本論文第1章は、梅原崇史氏、市川夏子氏との、第2章は葛原隆氏との、第3章の一部は八巻真理子氏、梅原崇史氏との共同研究を含んでいるが、論文提出者が主体となって分析及び検証を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

従って、博士(理学)の学位を授与できると認める。