

論文審査の結果の要旨

氏名 栄 徳 勝 光

本論文は全部で3つの章、特に第2章は3つの節からなる。第1章では研究の背景であるクロマチン構造変換反応及び転写反応について概説されている。第2章では研究結果について述べられており、1節ではヒストンシャペロン CIA 点変異体による網羅的表現型解析及び生化学的活性解析について、2節では CIA によるヌクレオソーム構造変換反応モデルとヌクレオソーム半保存的複製モデルについて、3節ではヒストン化学修飾反応からヌクレオソーム構造変換反応への伝達機構モデルについて述べられている。第3章ではこれらの結果について、現在までに得られている知見を総合的に踏まえて議論がなされている。

第1章では、①クロマチン構造変換反応の分子機構解明を目指して、クロマチン関連ドメインを有するサブユニットを数多く含む転写基本因子 TFIID に着目し、その最大サブユニット CCG1 のプロモドメイン(BrD)相互作用因子として進化的高保存因子 CIA(CCG1-interacting factor A)を単離してきたこと、②CIA がヒストン H3 中の(H3-H4)₂ 四量体形成領域と相互作用すること、③CIA がヌクレオソームの形成、破壊を担うヒストンシャペロン活性を有すること、④出芽酵母 *cia1* 破壊株が転写、複製、修復などの核内反応に参与する Spt 表現型、HU, MMS 感受性を示すことが述べられている。

第2章1節では、転写、複製、修復などの核内反応における Cia1p の役割を明らかにするために、分子表面アミノ酸 90 種類の *cia1* 点変異株を用いて Spt 表現型、HU, MMS 感受性検定を行っている。Spt 表現型、HU, MMS 耐性を示した *cia1* 点変異株は、90 株のうちそれぞれ 5, 8, 5 株あったが、これら変異導入アミノ酸は論文提出者らによって解明された CIA-H3-H4 複合体構造中のヒストン H3 相互作用部位に集中していることが明らかになった。これら点変異体と結合するヒストン量が減少したことから、*cia1* 変異株が表現型を示した要因としてヒストンとの結合能の低下を考えている。

第2章2節では、ヒストン H3, H4 の CIA 相互作用表面の点変異体を用いて、Cia1p 結合解析、Spt 表現型解析を行い、CIA-H3 相互作用が CIA-H4 相互作用より機能的により重要であることを示している。CIA-H3-H4 複合体がヌクレオソームと相互排他的な複合体であることから、ヌクレオソーム形成、破壊反応の反応中間体であるとしている。ヌクレオソーム破壊反応においては CIA がヒストン(H3-H4)₂ 四量体を分割すると考え、CIA によるヒストン(H3-H4)₂ 四量体の分割活性を見出し、ヌクレオソームの半保存的複

製モデルが成立しうることを提示している。ヒストン(H3-H4)₂ 四量体が安定であると 30 年来考えられていたためヌクレオソームはランダムに分配されると考えられていたが、このモデルはヒストン化学修飾という状態でコードされているエピジェネティック情報を娘細胞に均等に伝達させるのに合理的であるため、今後の実験的証明が待望される。

第 2 章 3 節では、CIA と CCG1 の BrD との複合体構造解析により CIA と BrD がヒストンとの相互作用表面の一部を介して相互作用していることを示している。また、BrD の CIA 相互作用表面の点変異体を用いて、CIA 結合解析、Spt 表現型解析を行い、両者が機能的、物理的に相互作用していることを示している。さらに、CIA-BrD(CCG1)複合体と CIA-H3-H4 複合体が相互排他的な複合体であることから、CIA に対する BrD(CCG1) とヒストン(H3-H4)₂ 四量体の競合実験を行い、CIA-BrD(CCG1)複合体から BrD(CCG1) が解離して、CIA がヒストン(H3-H4)₂ 四量体を破壊することを示している。BrD は細胞内外のシグナル依存に活性化された遺伝子プロモーター領域で見られるヒストンアセチル化リシンを認識することから、細胞内外のシグナル伝達がヌクレオソームの破壊にいたる機構モデルを提示しているが、クロマチンからの遺伝子制御機構を理解する上で今後の展開が期待される。

第 3 章では、*cia1* 破壊株、変異株や BrD の破壊株、変異株が Spt 表現型を示したことから、転写反応における転写開始点下流でのヌクレオソームの再形成に、CIA-ヒストン相互作用、CIA-BrD 相互作用が必要であると推測しており、複製、修復などの核内反応におけるクロマチン構造変換反応機構の解明も今後予期される。

なお、本論文第 2 章は、夏目亮、赤井祐介、佐野徳彦、堀越正美、千田俊哉（敬称略）との共同研究であるが、論文提出者が主体となって遺伝学的解析を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

したがって、博士（理学）の学位を授与できると認める。