

審査の結果の要旨

氏名 田辺 真彦

本研究は、ヒストンバリエントH2Av(ショウジョウバエH2AvD)の機能解析を目的として、ショウジョウバエ個体を用いて、①「転写活性化におけるH2AvDN末テイルのアセチル化の意義の解析」、②「H2AvD新規相互作用因子同定を目的とした新たなスクリーニング方法の構築」を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. **GFP-H2AvD**発現ラインと**H2AvD-GFP**発現ラインを比較した唾液線多糸染色体免疫染色とノザンブロットイングの結果、**GFP-H2AvD**は、クロマチンに取り込まれにくい可能性があること、および、転写活性化能が低いことが示された。これら両者間には、**H2AvD**のN末テイルのアセチル化状態に差がある可能性が推測された。
2. **H2AvDN**末テイルのアセチル化がクロマチンへの取り込みや転写活性化能に促進的に作用していることを確認するために、酵母**H2Av(Htz1)**の研究報告を参照し、N末テイルのリジン**K4,7,11,13,15**をすべてアルギニンRに置換した**KR-H2AvD-GFP**発現ラインを作出した。**KR-H2AvD-GFP**は、**GFP-H2AvD**と同様に、クロマチンに取り込まれにくく、転写活性化能が低いことが示された。
3. 上記のように**GFP-H2AvD**と**KR-H2AvD-GFP**の2ラインが同じ傾向を示したが、**GFP-H2AvD**は、N末テイルがアセチル化を受けているにもかかわらず、アセチル化特異的な抗体で検出されない可能性を残している。従って、本研究では、**KR-H2AvD-GFP**ラインで得られた結果が、N末テイルのアセチル化の意義を適切に評価したものであると考えている。
4. **split GFP system**をショウジョウバエ個体内で応用した新規スクリーニング方法の構築においては、N末**GFP-H2AvD**と、C末**GFP**融合未知タンパク質との相互作用による**GFP**蛍光の発現が、**embryo sorter**により検出され、スクリーニングが有用である可能性が示された。
5. 本スクリーニング方法により、**H2Av**と相互作用する可能性のある因子として、**Aac11**(apoptosis inhibitor 5)、**CG6195**(developmentally regulated GTP binding protein)、**pecanex**(spermatogenesisと関連する可能性あり)などが同定された。
6. C末**GFP**挿入が挿入された遺伝子に変異体となった場合に、N末**GFP-H2AvD**変異体との遺伝学的相互作用により、新たに表現型の異常が生じる場合があることが観察された。そこで、この結果を応用し、表現型を指標にしたスクリーニング方法を構築した。
7. 本スクリーニング方法により、**H2Av**と相互作用する可能性のある因子として、**nuf**(nuclear fallout ; microtubule binding)、**ltd**(lightoid ; GTP binding protein)、**Mnf**(myocyte nuclear factor ; winged helix/ forkhead transcriptional factor)などが同定された。

以上、本論文は、H2AvD N 末テイルのアセチル化の意義について、酵母 H2Av 研究で得られた知見に基づき、ショウジョウバエ個体の染色体構造および転写活性化領域の可視化モデルと関連づけて解析を行った。さらに、H2Av の新規相互作用因子を探索するための二つのスクリーニング方法を構築した。本研究における H2Av 置換評価モデルショウジョウバエの作出・解析、および、新規相互作用因子スクリーニング方法の構築は、高等真核生物での解析が困難な H2Av 置換研究に関して、重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。