

論文審査の結果の要旨

氏名 佐藤 塁

本論文は5章からなる。第1章は研究の目的、第2章は研究の背景、第3章は結果、第4章は考察、第5章は方法である。

真核生物のゲノム DNA は原核生物と比べて複雑な構造をとっており、裸の DNA と DNA に対する相互作用因子の関係だけでは遺伝子発現制御機構を論じることができない。これは、真核細胞中では DNA がヒストンと複合体を作りヌクレオソームという基本単位へと折りたたまれ、さらにそれが集合したクロマチン構造をとっているからである。ヌクレオソーム中の DNA に対して酵素が反応しようとしても立体障害が生じて反応が難しい。そのため、DNA 上の反応を進行させるためには、ヌクレオソームの構造変換が必須となる。その反応に寄与する因子あるいは酵素として、これまでに、ヌクレオソームの形成と破壊を行うヒストンシャペロン、ヌクレオソームを移動させるリモデリング酵素複合体、またそれらが反応するクロマチン領域に目印をつけるヒストン化学修飾酵素群の存在が明らかにされてきた。現在はこれら3種類の因子あるいは酵素群が協調的に働くことで、クロマチン上の遺伝子発現が制御されていると考えられている。

本論文は、蛋白質構造変換というこれまでにない視点で真核生物の遺伝子発現制御を論じることを目的としている。蛋白質構造変換酵素の一種である PPIase (Peptidyl-Prolyl cis-trans Isomerase) は蛋白質中のプロリン残基の cis/trans 異性化反応を触媒する活性を持ち、この反応により基質蛋白質の主鎖の方向を変えることで、蛋白質の高次構造を変換する。著者らは独自に単離した PPIase の一種である Fpr4 (FK506-binding proline rotamase 4) の解析を行った。Fpr4 は独立した2つの機能ドメインとしてヒストンシャペロンドメインと PPIase ドメインを有する蛋白質である。

Fpr4 のドメイン毎のヒストンシャペロン活性 (ヌクレオソーム形成活性) を生化学的手法により解析したところ、Fpr4 は PPIase ドメインを失うことで高い活性を有すること、また、PPIase 阻害剤である Rapamycin の添加量依存的に活性が上昇することを見出した。この結果は Fpr4 がヌクレオソーム形成を行う際に自身の PPIase 活性が阻害的に影響することを示している。加えて Fpr4 がヒストンと直接相互作用することから、Fpr4 の PPIase ドメインがヒストン蛋白質上のプロリン残基を異性化することを予想した。

次に、Fpr4 の PPIase 活性に関与するヒストン上のアミノ酸残基を見出すため、出芽酵母のヒストン包括的変異体ライブラリーを用い、Rapamycin に対する薬剤感受性スクリーニングを行った。結果としてヒストン上の3つのプロリン残基の周辺に Rapamycin 感受性残基が集中することが見出された。これらプロリン残基に対する Fpr4 の酵素活性を調べたところ、ヒストン H2B-P106 に対して高い基質特異性が得られた。H2B-P106 はヒスト

ン H2B の 2 つの α ヘリックス ($\alpha 3$ と αC) の間に位置するプロリンであることから、このプロリンの異性化により、末端側に近い αC ヘリックスが移動することが想定された。ヒストン H2B の構造変換は、H2B と H2A の相互作用に影響を及ぼし得る。その結果として特に Fpr4 の相互作用因子として同定されていた H2A のバリエーションである H2A.Z(出芽酵母 Htz1) と H2A が交換されることを予測した。

Htz1 が組み込まれたヌクレオソームは遺伝子のプロモーター領域に存在し、転写制御に関わる。また、Fpr4 の PPIase 活性が rDNA サイレンシング反応に関わるという知見から、H2B-P106 の異性化を介した rDNA 領域上の Htz1 の局在制御が考えられた。Chromatin IP により rDNA 領域上の Htz1 と H2A の局在を観察したところ H2B-P106A 変異株では、野生株と比べて顕著な Htz1 の局在低下が見られ、また逆に H2A の局在上昇が見られた。この結果を踏まえ、Fpr4 によるヒストン H2B-P106 の異性化がヌクレオソーム中の Htz1 と H2A の交換反応を促進するというモデルを立てた。

本論文の結果は PPIase によるヒストンコア領域の構造変換を初めて示唆するものであり、かつその反応を介したヒストンバリエーション交換反応の分子機構を説明していることから新規性が高く、クロマチン構造変換を介した真核生物の遺伝子発現制御機構の解明に大きな寄与をしているといえる。

なお、本論文は、東北大学、東京工業大学のグループとの共同研究であるが、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。

したがって、博士（理学）の学位を授与できると認める。