

論文審査の結果の要旨

氏名 山田 真太郎

生物にとって、遺伝情報の多様性を確保することが、持続的な生存可能性を高める大きな方法となっている。真核生物が子孫を残す際に生殖細胞で行われる「減数分裂」では、両親由来の染色体 DNA を積極的に切断・再結合することにより、遺伝的多様性が獲得される。本研究は、このような減数分裂期組換えの開始機構に関し、真核生物の大きな特質の一つである「クロマチン構造」や「エピゲノム修飾」の役割を検証するものである。本研究により、組換えが開始される染色体部位である「組換えホットスポット」の位置決定に、ヒストン H3 の N 末端から 9 番目のリシンのアセチル化 (H3K9ac) や、4 番目のリシンのトリメチル化 (H3K4me3) が関与することが、種々の遺伝学的解析から明らかになった。以下に本論文の構成と概要を述べる。

序論において、減数分裂期組換えの機構と、その生物学的意義が概観されている。次に、遺伝的組換えの開始におけるクロマチン構造やヒストンの化学修飾の関与について、背景がまとめられている。本研究の動機・目的としては、減数分裂期組換えの活性化と関連するヒストン修飾パターンとは何なのか、またそのパターンに変化を与えた場合などのような影響があるのか、という基本的質問が提起されている。著者は上記課題の解決のため、単純なモデル真核生物である分裂酵母を用いて、遺伝学的手法とゲノムワイドなヒストン修飾解析などを組み合わせ、詳細な分析を行った。

結果は7部から構成される。第1部では、減数分裂期組換えのホットスポットの一つ、*ade6-M26* 遺伝子座において観察される「特徴的なヒストン修飾パターン」について記述されている。まず、*M26* 配列に依存する *ade6-M26* ホットスポットにおいて、高レベルの H3K9ac と低レベルの H3K4me3 の組み合わせが顕著に観察されることを示した。第2部では、上記のヒストン修飾パターンが減数分裂開始前の体細胞分裂期に確立されることを明らかにした。第3部では、上記のヒストン修飾と組換え活性の量的相関について検証がなされている。その結果、両者に定量的な相関性が認められることが示された。以上をふまえ、第4部から第6部では、他の一般的な組換えホットスポットにおける同様のヒストン修飾パターンの存在を明らかにした。まず、第4部では、天然のゲノ

ム配列における他の M26 配列依存型ホットスポットにおいても、同様な修飾パターンを見出した。組換え活性化配列である M26 配列は、ストレス応答遺伝子の活性化にも関与する。そこで第 5 部では、転写活性化にのみ関与する M26 配列を含むプロモーター領域においてヒストン修飾を解析し、組換えホットスポット型と異なる修飾パターンが観察されることを示した。第 6 部では、ゲノムタイリングアレイと呼ばれる技術を用いて、分裂酵母の全ホットスポットにおけるヒストン修飾を解析した結果が記述されている。この結果、ゲノム全体のホットスポットに共通する傾向として、「高 H3K9ac—低 H3K4me3」というヒストン修飾パターンが認められることをはじめて明らかにした。第 7 部では、生体内のヒストン遺伝子に変異を導入し、H3K9 を非修飾型のアラニンに置換した酵母株を作製し、組換えの開始制御における影響を調べた。その結果、多くのホットスポットで、組換え開始に関わる DNA 二本鎖切断が低減することを示した。また、H3K4me3 を導入するヒストンメチル化酵素 Set1 の遺伝子破壊株を用い、H3K4me3 の消失により、ホットスポットにおける DNA 二本鎖切断レベルが影響を受けることを示した。さらに、これらの裏付けとして、組換え頻度への影響についても確認が行われている。

考察では、分裂酵母のホットスポットにおけるヒストン修飾の特徴と、その意義が述べられている。さらには、ヒストンの修飾機構や、ヒストン修飾を介した組換え活性化の仕組みについても議論がなされた。分裂酵母では H3K9ac や Set1 が他の未知因子と協調して、減数分裂期組換えの開始を調整するという仮説が提案されている。

本研究により、分裂酵母のホットスポットに共通するヒストン修飾パターンの実体ははじめて明らかにされた。本研究は、真核生物における減数分裂期組換えの開始を制御する「ヒストン修飾コード」の存在を示した点、また複数の修飾パターンの組み合わせが組換え開始の制御に重要である点を、はじめて明らかにした点で、当該分野において学問的に重要な貢献を果たしたと考えられる。

なお、本論文のデータは山田貴富と太田邦史との共同研究により得られたものである。しかしながら、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、審査委員会は全員一致で山田真太郎に博士（理学）の学位を授与できると判断する。