

Title	Study of replication timing control by internally located telomeric repeats and the telomere-binding protein Taz1 in fission yeast
Author(s)	Tazumi, Atsutoshi
Citation	大阪大学, 2012, 博士論文
Version Type	VoR
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/25431">https://hdl.handle.net/11094/25431</a>
rights	
Note	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

【19】

氏名	田 積 充 年
博士の専攻分野の名称	博 士 (理学)
学位記番号	第 2 5 7 2 1 号
学位授与年月日	平成 24 年 12 月 19 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 理学研究科生物科学専攻
学位論文名	Study of replication timing control by internally located telomeric repeats and the telomere-binding protein Taz1 in fission yeast (分裂酵母染色体内部に存在するテロメア配列とテロメア結合蛋白質 Taz1 による複製タイミング制御の研究)
論文審査委員	(主査) 教 授 升方 久夫 (副査) 教 授 滝澤 温彦 教 授 平岡 泰

論 文 内 容 の 要 旨

真核生物では染色体上の様々な領域に複製開始点が存在しており、染色体構造や機能と複製開始制御が互いにどのように影響するかは興味深い問題である。個々の複製開始点は S 期の特定の時期に活性化することから、時間的・空間的な複製開始制御の存在が想定されるが、その分子機構は未だ明らかではない。

yeast.) としてまとめた。よって、本論文は博士（理学）の学位論文として十分に価値があるものと認める。

私は複製開始点の活性化時期の決定因子を明らかにするためには周囲の塩基配列との関係を解析する必要があると考え、過去に当研究室で行った解析により初期・後期複製開始点が網羅的に同定された分裂酵母をモデル生物として研究をすすめた。私は後期複製開始点の内部あるいは周辺に複製開始時期を制御する塩基配列の存在を想定し、その活性を検出するために後期複製開始点(AT2088)を含む断片を初期複製開始点(*ars2004*)に隣接して組み込んだ。その結果 *ars2004* の初期複製が抑制されたことから、移動させた断片上に隣接する複製開始点のタイミングを制御する塩基配列が含まれると考えた。制御に関わる塩基配列を特定するために系統的に部分欠かさせた AT2088 断片を挿入し、25 bp の制御必須配列を同定した。さらに染色体上の本来の位置にある AT2088 において制御必須配列を欠失すると S 期初期複製開始したことから、この必須配列が後期複製開始点の S 期初期抑制に必要であると結論した。興味深い事に必須配列は分裂酵母のテロメアリピートに類似した配列をタンデムに 2 コピー含んでいた。染色体末端テロメアでは、配列特異的に Taz1 が結合する。そこで Taz1 の局在を解析したところ、上記のテロメア類似配列依存的に AT2088 への局在が認められた。テロメア配列に依存する複製タイミング制御が普遍的であるかを調べるため分裂酵母染色体の塩基配列を解析した結果、テロメア配列に隣接する後期複製開始点が 13 個存在し、そのうちのひとつ AT2035 には Taz1 が局在し、テロメア配列依存的にタイミング制御されていることを確認した。さらに *taz1* 遺伝子の破壊株を用いた解析から、上記の 2 つの後期複製開始点をはじめとして、後期複製開始点の約半数が Taz1 依存的に制御されていることを見いだした。以上の研究により、染色体内部にテロメアリピートが存在し、そこへ Taz1 が結合することによって周辺の複製開始点が抑制されるという全く新しい制御機構の存在を明らかにすることができた。

#### 論文審査の結果の要旨

細胞が分裂して増殖する過程において、遺伝子情報を担う染色体 DNA を正確に 1 回だけ複製し娘細胞に均等に分配することが生命の継承に必須である。真核生物では、膨大な情報を含む染色体 DNA を限られた時間内に複製するために、染色体上の多数の特定の部位（複製開始点）から複製を開始する。個々の複製開始点は S（複製）期の中の特定の時期に複製を開始するような複製プログラムが存在し、このような制御はあらゆる真核生物に共通する性質であるが、複製のタイミング制御のしくみは明らかになっていない。

申請者は、染色体上のすべての複製開始点が同定されている分裂酵母 *Shizosaccharomyces pombe* を使い、複製タイミング制御機構の解明を行った。染色体上で初期に複製を開始する Early origin と後期まで複製を開始しない Late origin を用いた解析から、Late origin 近傍に複製タイミングを制御するエレメント（配列）を同定し、その配列が染色体末端テロメアを構成するテロメアリピート配列に類似することを発見した。同様の配列を染色体上で探索し、別の Late origin についてもテロメアリピートが複製タイミング制御に必須であることからその普遍性を見いだした。さらに、本来のテロメアでリピート配列に結合する Taz1 タンパク質が Late origin 近傍のテロメア配列依存的に結合し、タイミング制御に必須であることを明らかにした。Taz1 に依存的な Late origin は染色体全体の Late origin の約半数を占め、Taz1 が染色体上のグローバルな複製タイミング制御に関与することを示した。本研究は、複製タイミングを制御する配列と結合因子を真核生物ではじめて明らかにした研究であり、またテロメア結合タンパク質が染色体末端以外の部位で重要な役割を果たすことを発見したことでもきわめて意義があるとされ、国際的に評価の高い *Genes and Development* 誌に掲載された。これらの結果を学位論文「分裂酵母染色体内部に存在するテロメア配列とテロメア結合タンパク質 Taz1 による複製タイミング制御の研究」(Study of replication timing control by internally located telomeric repeats and the telomere-binding protein Taz1 in fission