Osaka University Knowledge Archive

Title	Regulation of replication by novel factors in cell-free system of Xenopus eggs
Author(s)	松井, 倫子
Citation	大阪大学, 2006, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/46480
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏　　名　松井倫子（まつい ともこ）

博士の専攻分野の名称　博　士（理　学）

学位記番号　第　20057　号

学位授与年月日　平成18年3月24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　Regulation of replication by novel factors in cell-free system of *Xenopus* eggs
（アフリカツメガエル卵無細胞系における新規因子による複製制御）

論文審査委員　（主査）
教　授　滝澤　温彦

（副査）
教　授　田嶋　正二　　教　授　升方　久夫

論文内容の要旨

The initiation of DNA replication is tightly regulated in eukaryotic cells to ensure that the genome is precisely duplicated only once per cell cycle. Recent studies suggest that histone acetylation may be involved in replication initiation ; however, neither the enzymes nor the steps involved in this process are known. In this paper, I have shown that Hbo1, a member of the MYST histone acetyltransferase family, plays an important role in pre-replicative complex (pre-RC) assembly. I discovered that the nucleosome histone H4 is acetylated prior to replication initiation in the cell-free system of *Xenopus* eggs. *Xenopus* has at least two Hbo1 homologues (XHbo1) and the putative XHbo1 co-immunoprecipitated with the origin recognition complex (ORC), Cdt1 and geminin. When XHbo1 is immunodepleted from *Xenopus* egg extracts, chromatin binding of Mcm 2-7 complex was completely lost concomitant with the reduction of acetylation of histone H4 ; consequently, DNA replication was abolished. Recombinant Cdt1 restored chromatin binding of Mcm 2-7 complex as well as partial acetylation of Histone H4 in the XHbo1 depleted extracts. I also demonstrated that geminin bound to Cdt1 was acetylated depending on XHbo1 in the extracts. In addition to XHbo1, geminin was associated with an unidentified histone deacetylase whose activity was attenuated by the addition of free Cdt1 in the interphase egg extract. Here, I propose that XHbo is required for replication licensing via the acetylation of histone H4 and/or geminin ; additionally, deacetylase activity, which is modulated by Cdt1, might also play a role in the regulation of replication licensing.

（和訳）

真核生物では細胞周期一回につき遺伝情報のコピーは一回しか起こらない。それはDNA複製開始が厳格に管理されているためである。最近の研究からヒストンアセチル化修飾が複製開始に関係があることが示唆されていたが、複製開始時にアセチル化する酵素も、アセチル化が必要な過程も分かっていなかった。本論文で私はHbo1と呼ばれる、MYSTファミリーに属するヒストンアセチル化酵素が複製前複合体の形成に重要な働きをしていることを示してい

る。

まずツメガエル卵ではヌクレオソームのヒストン H4 が複製前にアセチル化されていることを示した。次に、ツメガエルは少なくともふたつの Hbo1 相同遺伝子を持っており、Hbo1 相同タンパク質は複製に必須な ORC 複合体、Cdt1、geminin タンパク質と共沈降することを示した。Hbo1 をツメガエル卵抽出液から免疫除去した場合には Mcm2-7 複合体の染色体結合が完全に抑えられ、ヒストン H4 のアセチル化も著しく減少し、その結果複製活性が無くなった。また Cdt1 に結合している geminin が Hbo1 依存的にアセチル化されていることも示した。間期の卵抽出液では geminin は Hbo1 以外に、未同定の脱アセチル化酵素と結合しており、その活性は遊離の Cdt1 タンパク質を加えると減少することを見出した。

これらの結果から私は、Hbo1 がヒストン H4 あるいは geminin のアセチル化を通して複製開始に関わるタンパク質であり、また Cdt1 によって活性が制御されている脱アセチル化酵素も複製開始時に役割を果たしていると考えている。

論文審査の結果の要旨

真核細胞では通常、1回の細胞周期につき遺伝情報はただ1回のみコピーされる。この原則は DNA 複製の開始を制御することによって守られている。最近の研究から、ヒストンアセチル化修飾が複製開始に関与していることが示唆されていたが、複製開始時にアセチル化する酵素も、アセチル化が必要な過程も分かっていなかった。松井倫子さんは Hbo1 と呼ばれる、MYST ファミリーに属するヒストンアセチル化酵素が複製前複合体の形成に重要な働きをしていることをアフリカツメガエル卵無細胞系を用いて初めて明らかにした。すなわち卵無細胞系では、ヌクレオソームのヒストン H4 が複製前にアセチル化されていること、アフリカツメガエルは少なくとも2種類の Hbo1 相同遺伝子を持っており、Hbo1 相同タンパク質は複製に必須な ORC 複合体、Cdt1、geminin タンパク質と共沈降すること、Hbo1 を卵抽出液から免疫除去した場合には Mcm2-7 複合体の染色体結合が完全に抑えられ、ヒストン H4 のアセチル化も著しく減少すること、Mcm2-7 の染色体結合は過剰な Cdt1 を加えることにより回復すること、その結果複製活性が無くなると、Cdt1 に結合している geminin が Hbo1 依存的にアセチル化されていることを示した。これらの結果は、Hbo1 がヒストン H4 あるいは geminin のアセチル化を通して複製開始の制御に関わるタンパク質である事を示しており、新規因子による複製開始の制御機構が存在することを初めて明らかにしたものである。よって、本論文は博士（理学）の学位論文として十分価値のあるものと認める。