

Title	Essential Role of p400/mDomino chromatin-remodeling ATPase in bone marrow hematopoiesis and cell-cycle progression
Author(s)	藤井, 俊裕
Citation	大阪大学, 2010, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/57750
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、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

【85】

氏名	藤井 俊裕
博士の専攻分野の名称	博士(理学)
学位記番号	第 23942 号
学位授与年月日	平成22年3月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 生命機能研究科生命機能専攻
学位論文名	Essential role of p400/mDomino chromatin-remodeling ATPase in bone marrow hematopoiesis and cell-cycle progression. (ATP依存性クロマチンリモデリング因子p400/mDominoは骨髄造血と細胞周期進行に必須である)
論文審査委員	(主査) 教授 長田 重一 (副査) 教授 田中亀代次 教授 野島 博 教授 仲野 徹

論文内容の要旨

ATP依存性クロマチンリモデリング因子p400/mDomino(以下mDominoと略す)は、ATPase活性を用いてヌクレオソーム構造を変換することで、遺伝子発現やDNA修復などの反応に関与している。またmDominoの独特な機能として、ヒストンH2AとヒストンバリエントH2A.Zの置換反応が明らかになっており、この反応を利用して遺伝子発現の制御に関与していると考えられる。上田らは以前にmDominoがマウス胎生発生段階の初期造血において必須であること、その欠損は胎生致死をもたらすことを見いだした。一方、成体の様々な組織でもmDominoは発現している。そこで本研究では、mDominoコンディショナルノックアウトマウスを作製し、マウス成体におけるmDominoの機能解析を行った。Creを用いて主に骨髄、肝臓、脾臓などで誘導的にmDominoを欠損させると、マウスは2週間以内に死滅し、その骨髄では造血幹細胞を含むほぼ全ての造血細胞が消失していた。このことはmDominoが胎児期における初期造血だけでなく成体造血においても必須であることを示している。また*in vitro*造血コロニーアッセイの結果から、mDominoの欠

損は造血細胞の増殖を著しく阻害していることが示された。そこで、細胞増殖におけるmDominoの関与を解析するために、タモキシフェン処理によりmDominoを欠損させることができる胚性繊維芽細胞(MEF)を作製した。このMEFでmDominoを欠損させると、その増殖は強く抑制された。またmDomino欠損MEFは肥大化し、多核化した細胞や微小核を有する細胞が観察された。さらにフローサイトメトリーによる細胞周期の解析から、mDominoの欠損により、S期への移行が遅延すること、G2/M期に相当するDNA含有量(4N)の細胞が蓄積することが示された。次にDNAアレイにより、mDominoの欠損に伴う遺伝子発現変化を解析した。その結果、コントロールと比べ、1,000を超える遺伝子に発現の変化が認められた。そのうち340遺伝子の発現は減少しており、790遺伝子の発現は増加していた。そして40%以下に減少した113遺伝子のうち30遺伝子が細胞周期に関連した遺伝子であった。その中にはFoxM1転写因子の標的遺伝子でG2/M期特異的に発現されるCENP-F、PLK1、NEK2遺伝子やc-Mycの標的遺伝子であるBARD1、CyclinA2、p107遺伝子等が確認された。またmDomino非存在下でこれらの遺伝子は本来の細胞周期に伴う発現変化を起こさず、その発現は常に低下していた。以上の結果より、mDominoは細胞増殖に必須であることがわかった。またmDominoは細胞周期に関与する遺伝子発現の制御を行うことで、細胞増殖に関わっていると考えられる。

論文審査の結果の要旨

ATP依存性クロマチンリモデリング因子p400/mDominoはATPase活性を用いてクロマチン構造を制御することによって、遺伝子発現に携わっている。以前、上田らはp400/mDominoのノックアウトマウスの樹立を試み、このマウスは胎生致死であること、p400/mDomino遺伝子はマウス胎生期の初期造血に必須であることを報告した。一方、p400/mDomino遺伝子は骨髄など生体の種々の組織に発現している。そこで藤井俊裕君は、成体におけるp400/mDominoの役割を調べる為に、p400/mDominoのコンディショナルノックアウトマウスを作製した。成体マウスでp400/mDominoの欠損を誘導すると、そのマウスの骨髄で造血幹細胞を含むほぼ全ての造血細胞が消失し、種々の組織で出血の症状を呈し、二週間以内に死滅した。この結果は、p400/mDominoが成体造血でも必須であることを示している。また、このコンディショナルノックアウトマウスの胚組織より繊維芽細胞を調製、この細胞を用いてp400/mDominoを誘導的に欠質させ、p400/mDominoは細胞周期の制御に必須の分子であることを示した。

以上の研究は、クロマチン構造変化を伴う転写制御寄稿の解明に寄与するものである。したがって、藤井俊裕君は学位の授与に値すると認める。