

Title	Heterochromatin suppresses gross chromosomal rearrangements at centromeres
Author(s)	沖田, 暁子
Citation	大阪大学, 2019, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/72670
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

論 文 内 容 の 要 旨

氏 名 (沖 田 暁 子)

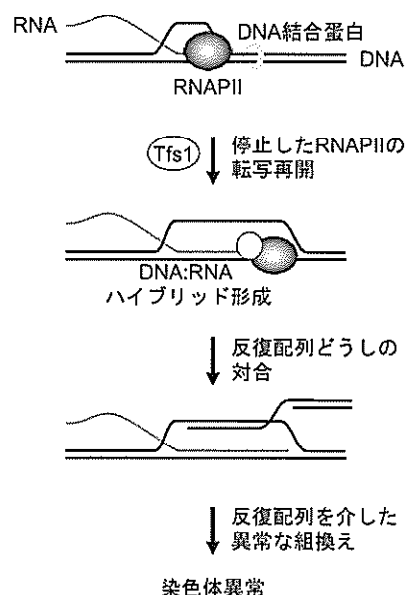
論文題名

Heterochromatin suppresses gross chromosomal rearrangements at centromeres
(ヘテロクロマチンによるセントロメア・リピートを介した染色体異常の抑制機構)

論文内容の要旨

真核生物の染色体は、DNAとヒストン蛋白から成るヌクレオソームを基本構造とし、それが弛緩したユークロマチン領域と、凝縮したヘテロクロマチン領域に分けられる。ヘテロクロマチン領域では、ヒストンH3の9番目のリシン残基 (H3K9) がメチル化修飾を受ける。これを目印に様々なヘテロクロマチン蛋白が集合することでクロマチンが凝縮し、DNAからRNAへの転写などが阻害される。ヘテロクロマチンはセントロメアなど反復配列が存在するDNA領域で形成される。こうした反復配列を「のりしろ」にして、転座などの染色体異常が生じることがある。H3K9のメチル化酵素を破壊したマウスでは発癌リスクが高くなることから、ヘテロクロマチンが染色体の安定化に関与する可能性が考えられている。しかし、ヘテロクロマチンが反復配列を介した染色体異常を抑制するのは明らかになっていない。

そこで、私は高等真核生物と類似したクロマチンを形成する分裂酵母を用いて解析を行ったところ、ヘテロクロマチンがセントロメア・リピートを介した染色体異常を抑制することを明らかにした。H3K9のメチル化に必要なClr4/Suv39を破壊したところ、セントロメア・リピートを介した染色体異常が高頻度で検出された。同様の結果が、Clr4の触媒ドメインの変異によっても得られた。また、メチル化されないアミノ酸残基にH3K9を置換した場合にも染色体異常が増加した。これらのことから、Clr4によるヒストンH3K9のメチル化修飾が染色体異常の抑制に重要であると考えられる。また、ヘテロクロマチン蛋白も染色体異常の抑制に必要であったことから、複雑なヘテロクロマチン構造の形成が染色体異常の抑制に重要だと考えられる。ヘテロクロマチン欠損細胞では転写が起これば反復配列どうしの相互作用が生じて、染色体異常誘発される可能性が考えられる。そこで、RNAポリメラーゼII (RNAPII) に変異を導入したところ、*clr4*欠失株の染色体異常の発生頻度が顕著に減少した。RNAPIIは転写中に様々なDNA結合蛋白に衝突するが、転写伸長因子によってRNA合成が促進される。興味深いことに、転写伸長因子の中でも、進行停止して後退 (backtrack) したRNAPIIの進行再開を促進するTfs1/TFIISを破壊した場合に、染色体異常が減少した。ただし、このとき、クロマチン免疫沈降 (ChIP) 解析を行ったところ、RNAPIIのセントロメア結合には大きな変化は見られなかった。また、セントロメア由来のRNAも僅かな減少しか見られなかった。よって、RNAPIIのクロマチン結合や転写反応それ自体が染色体異常を引き起こすのではなく、Tfs1依存的な転写が染色体異常を誘発すると考えられる。本研究から、RNAPIIによる転写は常に同じように起こるのでなく、Tfs1依存的な転写が起きると染色体の安定維持に大きく影響することが明らかになった。Tfs1/TFIISはDNA結合蛋白を押し退けて転写伸長に働く。こうしたTfs1依存的な転写がセントロメアなど反復配列の存在する染色体領域で起こると、正確なDNA修復に必要な蛋白が解離したり (図)、転写産物が鋳型DNAとハイブリッド形成することで、露出した一本鎖の反復配列どうしがアニーリングし、反復配列を「のりしろ」にした染色体異常が誘発される可能性が考えられる。



論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 (沖 田 暁 子)		
	(職)	氏 名
論文審査担当者	主 査	教 授 小 布 施 力 史
	副 査	教 授 篠 原 彰
	副 査	教 授 平 岡 泰
	副 査	高知工科大学 環境理工学群 教授 石 井 浩 二 郎
	副 査	准教授 中 川 拓 郎
論文審査の結果の要旨		
以下本文		
<p>染色体分配に重要な働きをするセントロメアと呼ばれる染色体領域はクロマチン構造が凝縮したヘテロクロマチンを形成する。しかし、ヘテロクロマチンが染色体の安定維持に果たす役割は完全には解明されていない。</p> <p>沖田暁子氏は、分裂酵母を用いてヘテロクロマチンの分子基盤であるヒストン H3 の 9 番目のリシン (H3K9) のメチル化がセントロメア・リピートを介した染色体異常の抑制に重要であることを発見した。また、H3K9 のメチル化は HP1 蛋白質や RNAi 蛋白質などをセントロメアにリクルートすることで染色体異常を抑制することが示唆された。ヘテロクロマチンの複雑な高次構造は転写を阻害することが知られている。そこで、沖田さんは転写制御の役割について解析を行ったところ、一旦停止した転写の伸長再開に働く Tfs1/TFIIS が関与する転写がセントロメアでの染色体異常を誘発することを明らかにした。これらの結果から、ヘテロクロマチンによる転写制御が染色体異常を抑制することが明らかとなった。また、Tfs1 依存的転写がクロマチン上の蛋白質の移動や解離、また、DNA:RNA ハイブリッドの形成を引き起こすことで、反復配列を介した染色体異常を誘発するモデルを提示した。</p> <p>提出された学位論文の内容として、データの質、量ともに申し分なく、それらを用いた論理的な構成が適切になされていた。また、自分が行った研究のこのみならず、背景や知識の十分な理解も伺えた。また、学位論文の成果の一部は学術誌に掲載されている。</p> <p>よって、本論文は博士 (理学) の学位論文として十分価値あるものと認める。</p>		