

論文内容の要旨

申請者氏名 Moo Kar Yee

DNA 複製を正常に行うことは完全な遺伝情報を持つ2つの娘細胞を生み出すために重要である。通常、DNA 複製はユークロマチン領域から始まり、S 期後期で構成的ヘテロクロマチン領域の複製が行われることが知られている。しかしながら、このような秩序立った DNA 複製のタイミング制御がどのように為されるのか、また植物におけるその生理的意義については殆ど不明であった。これまでの研究により、構成的ヘテロクロマチンの形成に重要なヒストン H3 の 27 番目のリジンのモノメチル化 (H3K27me1) が、シロイヌナズナの根端において細胞周期依存的に振動していることが明らかになっていた。H3K27 は植物特異的なヒストンメチル化酵素 ATXR5 とそのホモログ ATXR6 によりモノメチル化される。ATXR5/6 のタンパク質蓄積様式は H3K27me1 レベルの振動とよく相関しており、S 期前期で低下し始め、後期で低く保たれている。そこで本研究は、S 期における H3K27me1 レベルの変化の生理的意義と、ATXR5/6 の蓄積制御機構を明らかにすることを目的として行われた。

申請者は、新たに単離した *atxr5/6* 二重変異体の解析を通して、ATXR5/6 が S 期の正常な進行に重要であることを見出した。*atxr5/6* では、S 期前期にユークロマチン領域と構成的ヘテロクロマチン領域が同時に複製されることを明らかにした。また、DNA 複製ストレスに起因する姉妹染色体分離の異常や DNA 損傷の蓄積、および DNA 損傷応答遺伝子の発現上昇が見られたことから、ATXR5/6 が秩序立った DNA 複製のタイミング制御に重要であり、それがゲノムの安定維持に不可欠であることが示唆された。さらに申請者は、ATXR5/6 タンパク質の蓄積量が SCF 型 E3 ユビキチンリガーゼの阻害剤処理により上昇することを明らかにした。また、F-box タンパク質として FBL17 に着目し解析した結果、*fbl17* 変異体では ATXR5/6 タンパク質の蓄積量が増加していることを明らかにした。さらに *fbl17* 変異体において遺伝子発現の解析も合わせて行った結果、ATXR5 は FBL17 によりタンパク質レベルの制御を受ける一方、ATXR6 はタンパク質分解による制御とともに、mRNA レベルでも FBL17 による制御を受けることが示唆された。また、細胞周期における FBL17 タンパク質の蓄積のタイミングが ATXR5 と相補的であることも明らかにした。以上の結果から、FBL17 による ATXR5/6 の蓄積制御によりユークロマチン領域と構成的ヘテロクロマチン領域の複製のタイミングが制御され、ゲノムが安定的に維持されていることが明らかになった。本研究により、FBL17 が細胞周期においてクロマチン構造と DNA 複製を協調的に制御する鍵因子である可能性が示された。

やむを得ない事由[図書出版, 学術雑誌等への掲載, 特許・実用新案出願, 個人情報等の保護, その他 ()]により本要旨を非公表とする。

【※該当する事由に○印をすること】

論文審査結果の要旨

申請者氏名 Moo Kar Yee

ゲノムの完全性を維持するためには、細胞周期の S 期で DNA が正しく複製される必要がある。DNA 複製はユークロマチン領域から構成的ヘテロクロマチン領域へと順序だで行われることが知られているが、このような複製タイミングがどのように制御されるのかは解明されていなかった。これまでのシロイヌナズナの根端分裂組織を用いた研究で、構成的ヘテロクロマチンの形成に重要なヒストン H3 の 27 番目のリジンのモノメチル化 (H3K27me1) が細胞周期依存的に振動していることが明らかになっていた。H3K27 のモノメチル化は植物特異的なヒストンメチル化酵素である ATXR5 と ATXR6 により行われるが、ATXR5/6 タンパク質の蓄積様式が H3K27me1 レベルの振動と類似していたことから、細胞周期進行に伴う H3K27me1 の変化は ATXR5/6 の蓄積様式により制御されていると考えられた。しかしながら、H3K27me1 の変化が細胞周期進行においてどのような役割をもつのか、また ATXR5/6 の蓄積がどのように制御されているのかは不明であった。

申請者は、新たに単離したシロイヌナズナの *atxr5/6* 二重変異体を用いた解析から、ATXR5/6 が細胞分裂を制御していること、さらに S 期における段階的な DNA 複製の進行、すなわち複製タイミングの制御に ATXR5/6 が関与していることを明らかにした。これまでヒストン修飾については遺伝子発現の制御という観点から多くの研究が為されてきたが、植物において DNA 複製の観点から研究された例は殆どなく、この研究成果は新規性の高い発見である。また申請者は、ATXR5/6 が S 期において SCF^{FBL17} を介したタンパク質分解制御を受けることを明らかにし、細胞周期に依存した ATXR5/6 の蓄積制御機構を提唱した。さらに、*atxr5/6* 変異体において DNA 損傷が蓄積し、DNA 損傷応答が活性化していることを示すことで、H3K27me1 による DNA 複製タイミングの制御がゲノムの安定維持に不可欠であることを見出した。このように、申請者は各種レポーター遺伝子および変異体を用いて細胞周期レベルの詳細な解析を行うことで、ヒストン修飾による DNA 複製タイミングの制御が植物ゲノムの恒常性維持に重要な役割をもつことを世界に先駆けて発見し、クロマチンダイナミクスと DNA 複製ドメインの新たな関係性について提唱するに至った。

以上のように、本論文はヒストンメチル化酵素によるクロマチン構造制御を介した DNA 複製タイミングの制御機構を明らかにしただけでなく、植物のゲノム恒常性維持機構に関して重要な知見を提供するもので、学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって審査委員一同は、本論文が博士 (バイオサイエンス) の学位論文として価値あるものと認めた。

やむを得ない事由 [図書出版, 学術雑誌等への掲載, 特許・実用新案出願, 個人情報等の保護, その他 ()] により本要旨を非公表とする。

【※該当する事由に○印をすること】