

## 論文審査の結果の要旨

氏名 細山田 舜

本論文は、全体の Introduction と 2 章からなる。第 1 章では、rDNA の安定化に必要な新規遺伝子のスクリーニングの結果がまとめられている。第 2 章では、スクリーニングの結果、同定された CCR4-NOT 複合体の機能解析が記されている。

真核生物におけるリボソーム RNA 遺伝子 (rDNA) は、100 コピー以上の巨大反復遺伝子群を形成している。rDNA は反復構造であるがゆえに、相同配列間での組換えが起りやすく、コピー数の変動に伴うゲノムの不安定化が生じやすい領域であることが知られている。このような問題に対処するため、内在的な rDNA の安定性維持機構の存在が報告されている。また、ヒトの特定の疾患や癌の細胞において、異常な rDNA 領域の再編成が生じていることも知られている。rDNA の安定性維持機構の基本原理は明らかになっている一方で、関与する遺伝子の機能や相互作用については不明であった。加えて、組換えを引き起こす複製阻害点(RFB)近傍部位における DNA の 2 本鎖切断の誘導機構や、その修復経路、コピー数の変動に関わる非コードプロモーター E-pro からの転写産物の分解経路の詳細は未解明であった。上記の問題を解決するため、本研究では、rDNA の安定性を維持する新規遺伝子の同定とその機能解析を行い、以下の結果を得ている。

1. rDNA の安定性維持に関わる新規遺伝子の同定のため、rDNA の組換えの結果生じる ERC を指標として、定量的なスクリーニングを行い、複数の新規遺伝子同定に成功した。
2. スクリーニングの結果得られた新規遺伝子 Pop2 とそれを構成因子とする CCR4-NOT 複合体の関連遺伝子について解析を進めた。rDNA の安定性に対する CCR4-NOT 複合体の関与を明らかにするため、PFGE を用いた解析を行った。その結果、Pop2 を含む複数の構成因子が rDNA の安定性維持に必要であることが示された。
3. CCR4-NOT 複合体の主機能である脱アデニル化活性の rDNA の安定性に対する影響を調べた。Pop2、Ccr4 の遺伝子欠損株に対し、完全型及び変異型の Pop2、Ccr4 のプラスミドを導入し、PFGE により、解析を行った。その結果、Ccr4 の

脱アデニル化活性が rDNA の安定性維持に必要である事を解明した。

4. 先行研究において、rDNA の遺伝子間領域に存在する E-pro からの転写の増加が rDNA の安定性を低下させる事が報告されている。本研究では、CCR4-NOT 複合体の構成因子欠損株において、E-pro からの転写が増加し、rDNA の安定性に影響を与えることを明らかにした。

5. E-pro からの転写の増加は、rDNA 領域におけるコヒーシ結合量の低下をもたらすことが報告されている。Pop2 欠損株において、ChIP-qPCR 法を用い、コヒーシンの結合量を調べた。その結果、Sir2 と同様に、有意に結合量が低下することを明らかにした。

6. コンデンシンは、rDNA の凝縮を介した安定性維持に必要であることが報告されている。Pop2 欠損株において、ChIP-qPCR 法を用い、コンデンシンの結合量を調べた。その結果、有意に結合量が低下することを明らかにした。

7. rDNA の安定性維持に極めて重要な役割を果たす Sir2 との挙動の違いを解析した。その結果、CCR4-NOT 複合体の場合、rDNA の組換えの促進だけでなく、rRNA の発現の低下を引き起こし、生育の悪化をもたらすことが示唆された。

以上の結果から本研究では、CCR4-NOT 複合体が rDNA の安定性維持に必須であることを初めて明らかにした。CCR4-NOT 複合体が正常に機能しない場合、E-pro からの転写が正常に制御できなくなり、コヒーシン・コンデンシンの結合量の低下に伴う rDNA の不安定化を引き起こすことが示唆された。また、CCR4-NOT 複合体は rDNA の安定性維持のみならず、rRNA の発現の制御を介し、生育に影響を与えることも判明した。本論文の成果は、rDNA の安定性維持機構における特定の RNA 分解系の関与を理解する上で、重要なものである。

なお、本論文は、佐々木 真理子博士、小林 武彦博士との共同研究であるが、論文提出者が主体となって分析及び検証を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

したがって、博士(理学)の学位を授与できると認める。