

## 審査の結果の要旨

氏名 石橋 舞

真核細胞が分裂する際には、DNA 複製期 (S 期) に倍加された同一の遺伝情報をもつ DNA 分子 (姉妹染色分体) の対を娘細胞へ均等に分配しなければならない。この過程の異常は癌化を始めとする様々な疾患や老化の原因でもある。この過程で特に重要なのは、進化的に保存された染色体構造制御タンパク質であるコヒーシンである。コヒーシンは、間期核中で姉妹染色分体間に連結 (姉妹染色分体間接着) を形成することで、娘細胞への遺伝情報の均等な分配を保証する。コヒーシンは、その **Smc3** サブユニットがアセチル化されることにより染色体に安定に結合するが、このアセチル化機構が失われると姉妹染色分体間接着の欠損が生じる。ヒトでは **Esco1**、**Esco2** と呼ばれる二種類のアセチル化酵素がコヒーシンのアセチル化を行うが、遺伝学的解析より **Esco1** と **Esco2** は代替できない固有の役割を各々持つことが示されている。しかし、**Esco1** と **Esco2** の役割分担は未だ明らかではないことから、学位申請者は、**ChIP-seq** (核内タンパク質の染色体上での結合位置を網羅的に決定する実験手法) データを用いた情報学的解析による **Esco1** と **Esco2** の役割分担の解明を行った。

これまでの研究から、**Esco1** とは異なり、**Esco2** の局在位置は従来の **ChIP-seq** 解析では検出できないことが明らかとなっていた。そこで、学位申請者はまず、情報学的解析手法の改良による **Esco2** の結合位置の同定を行っている。具体的には、**Esco2** の結合位置が染色体上で十分限局されておらず、広範な領域に遍在的に結合している可能性を考慮し、こうした非限局性結合領域を同定する手法を確立した。非限局的なタンパク質結合の検出には、ゲノム上に疎に分布する **ChIP** リードをバックグラウンドのノイズと区別する必要があることから、(i) 解析におけるゲノムを区切る区画 (bin) の拡大、(ii) 定量的 **ChIP-seq** 法 (**ChIP** サンプル調整時に添加する外来 DNA を内部標準としてサンプル間の定量比較を行う手法) の採用の 2 点の改良を加え、解析パイプラインを構築した。その結果、**Esco2** の結合領域の同定に成功し、更にその局在領域と DNA 複製因子 (複製ヘリケース **Mcm** のサブユニットである **Mcm7**) の挙動が一致することを見出した。次に、**Esco1**、**Esco2** が機能した証となるアセチル化された **Smc3** (**Smc3ac**) に特異的な抗体を用いて **ChIP-seq** 解析を行い、**Esco2** による **Smc3** のアセチル化は DNA 複製の進行と同じタイミングで起きていることを見出している。これにより、**Esco2** は DNA 複製と共役してコヒーシンを S 期にアセ

チル化していると結論付けた。一方で、Esco1によるアセチル化には細胞周期特異性は見いだされず、ユークロマチン領域（転写活性の高い領域）特異的であると結論付けている。さらに、複製に伴う Esco2 のコヒーシニアセチル化は染色体全域で起こるものの、一部の染色体領域では、一度上昇したアセチル化レベルが複製終了後の G2 期に至るまでに元のレベルまで減少してしまうという現象を見出したことから、このアセチル化レベルが低下する染色体領域と維持される領域の特徴を Hi-C（染色体上の任意の 2 点が核内 3 次元空間で近接して存在する頻度を計量する実験手法）によって解析し、複製タイミングの遅い領域が姉妹染色分体間の接着確立に寄与することを示した。

これらの研究成果は、遺伝情報の継承に必須の姉妹染色分体間接着のメカニズムについて詳細に明らかにしたものであり、医学、薬学等の分野への波及効果も大きく、学術上応用上寄与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（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。