

審査の結果の要旨

氏名 南野 雅

細胞が遺伝情報を継承するためには、染色体を正確に複製し、均等に分配する必要がある。コヒーシ複合体は、リング状の構造を利用して、複製された染色体を分配までの間つなぎとめておく役割を担っているが、その際にコヒーシサブユニット **SMC3** がアセチル化される必要がある。**SMC3** アセチル化酵素として、酵母においては **Eco1** が同定されている。**Eco1** は DNA 複製装置の構成因子 **PCNA** と物理的に相互作用し、また、S 期初期に DNA 複製開始点に局在することも報告されている。このことから、**Eco1** が DNA 複製装置と連携して染色体上を移動し、姉妹染色分体間の接着を確立すると推測されている。姉妹染色分体間の接着を確立した後、**Eco1** は、サイクリン依存性キナーゼ 1 (**Cdk1**) 等のキナーゼにリン酸化されることによって、プロテアソームに分解される。その分解は分裂期の速やかな進行に必要であることから、**Eco1** の機能は、分裂期までに抑制される必要があると言える。

ヒト細胞では、**Eco1** のホモログとして、**Esco1**、**Esco2** が同定されている。これら 2 酵素は、C 末端領域にアセチル化酵素ドメインを持ち、その領域のアミノ酸配列は類似している一方で、その他の領域は、互いに異なっている。また、細胞周期における挙動も異なり、**Esco1** は細胞周期を通じて発現する一方で、**Esco2** は S 期に発現し、以降は急速に分解される。ヒト細胞では、**Esco1**、**Esco2** の両者が **SMC3** アセチル化に必要であることが知られているが、それらによる **SMC3** アセチル化がどのように制御されているのか、その差異も含め、詳細は不明であった。

まず、学位申請者は、これらのヒトコヒーシアセチル化酵素が、**PCNA** を含む DNA 複製装置の構成因子と相互作用するかどうか解析した。その結果、**Esco2** は **PCNA** とは相互作用しない一方で、**MCM** 複合体と相互作用することがわかった。この相互作用は、**Esco2** 特有の構造をとる N 末端領域に変異を導入することにより、抑制された。ヒト細胞で **MCM** 複合体をノックダウンしたところ、**Esco1** の機能に影響は見られなかったが、**Esco2** の **SMC3** のアセチル化量は減少し、さらには、**Esco2** のタンパク量が減少していることが判明した。そして、**MCM** 複合体と相互作用できない **Esco2** の細胞内での安定性を解析し

たところ、野生型に比べ、この変異体はプロテアソームに分解されやすいことを見出した。以上の結果から、Esco2 は MCM 複合体と相互作用することによって安定化されることが示唆された。

その一方で、Esco1 は、PCNA、MCM 複合体とも相互作用せず、Esco2 と異なる機構で機能する可能性が考えられた。近年になって、コヒーシ相互作用因子 Pds5 が酵母、マウス細胞において、SMC3 アセチル化に必要であることが報告されている。そこで、ヒト Pds5 と SMC3 アセチル化の関連を解析したところ、Pds5 は Esco1 の SMC3 アセチル化経路に選択的に関与し、SMC3 アセチル化を促進することがわかった。また、Esco1 は、その中央領域を介して、Pds5 と物理的に相互作用し、その相互作用は Esco1 による SMC3 アセチル化、さらには、姉妹染色分体間の接着形成に必須であった。また、Esco1 とコヒーシンの染色体上での局在を網羅的に解析した結果、Esco1 はコヒーシと共局在していることが判明した。この Esco1 の局在は Pds5 との相互作用に依存していた。以上の結果から、Pds5 は Esco1 と物理的に相互作用することによって、Esco1 をコヒーシン上に局在させ、姉妹染色分体間の接着を形成していると結論付けた。

Esco1 とコヒーシンの共局在は、S 期だけでなく、間期を通じて見られ、また、Esco1 は、DNA 複製の開始前だけでなく、終了後においても SMC3 を新規にアセチル化することができた。以上の結果から、Esco1 は DNA 複製とは無関係に機能すると考えられた。そこで次に、Esco1 の機能が分裂期に抑制されるかどうか検証した。Esco1 は分裂期になると、リン酸化修飾を受けることが知られている。申請者が質量解析を用いて、Esco1 のリン酸化部位を解析したところ、Pds5 との相互作用に重要であったセリン残基が分裂期にリン酸化されることが判明した。このリン酸化は Aurora B キナーゼに依存しており、このセリン残基にリン酸化様変異を導入すると、Pds5 との相互作用が減少した。この相互作用は Esco1 による姉妹染色分体間接着の形成に必須であるので、Aurora B キナーゼは、分裂期に Esco1 をリン酸化することによって、Pds5 との相互作用を減少させ、Esco1 の機能を抑制している可能性がある。これらの研究成果は、Esco1、Esco2 の作用機序の違いを明確に示しており、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。