

論文審査の結果の要旨

氏名 後藤祐平

本論文は、要旨(和文および英文)、序、材料と方法、結果と考察(1 節～8 節)、まとめと展望および謝辞から構成される。

「序」では体細胞分裂におけるコヒーシンの制御および染色体分配についての概要が述べられている。染色体分配における必須のプロセスである「コヒーシンによる姉妹染色分体間接着確立」、「コヒーシン制御因子」、「CPC による染色体両方向性結合の確立」、および「Hrk1 による CPC のセントロメア局在制御機構」について、これまでの知見が述べられている。また本研究の目的がコヒーシンサブユニット Pds5 による Hrk1 の局在制御機構の解明にあることが記述されている。

「材料と方法」では、本研究において使用された大腸菌および分裂酵母の遺伝子型と実験方法、酵母ツーハイブリッド法および ChIP 解析の実験方法について詳細に記述されている。

「結果と考察」は 8 節から構成される。第 1 節では、Hrk1 の N 末端領域に Pds5 と相互作用するのに必要な PIM (Pds5-Interacting-Motif)を見出した。PIM は真核生物で高度に保存されており、ヒト Hrk1 ホモログである Haspin においても PIM がヒト Pds5B との相互作用に必要であることを示した。第 2 節では、Pds5 の N 末端領域に Hrk1 との相互作用に必要な HIM (Hrk1-Interacting-Motif)を見出した。HIM も真核生物間で高度に保存されており、ヒト Haspin と Pds5B との相互作用にも必要であった。また、分裂酵母細胞内においても Hrk1-Pds5 の相互作用が PIM-HIM に依存していることが示された。第 3 節では、Pds5 と Hrk1 の PIM-HIM の変異体で Hrk1 のセントロメア局在が低下することを顕微鏡観察及び ChIP 解析を用いて示した。また、CPC のサブユニットである Ark1 のセントロメア局在もそれらの変異体で低下することを示した。第 4 節では、Pds5 と Hrk1 の PIM-HIM の変異体で染色体分配の異常が生じることを示した。また、Hrk1 を強制的にセントロメアへと局在化させることにより、Ark1 のセントロメア局在の低下及び染色体分配の異常を抑圧することを示した。第 5 節

では、DNA topoisomerase II/ Top2 が Pds5 による Hrk1 の局在化をサポートしているということを示した。Top2 は染色体上へと Hrk1 を呼び込み、Pds5 へと受け渡すことで Hrk1 を染色体上へと蓄積させているというモデルを提唱している。第 6 節以降では、Pds5 の HIM が Hrk1 以外の因子との相互作用にも必要であることを示した。第 6 節では、コヒーシン解離因子 Wpl1 も保存された PIM を持ち、Pds5 との相互作用に PIM-HIM が必要であることを示した。また、PIM-HIM に依存した Wpl1-Pds5 の相互作用は Wpl1 の機能に必要なことを示した。第 7 節では、コヒーシン安定化因子 Eso1 も分裂酵母属内に保存された PIM を持ち、Pds5 との相互作用に PIM-HIM が必要であることを示した。Eso1-PIM および Pds5-HIM の変異体では、Eso1 の機能が低下していることを示した。また、高等動物でのコヒーシン安定化因子 Sororin も PIM をもち、Pds5 との相互作用に PIM-HIM が必要であることを示した。これらの知見から、分裂酵母の唯一のコヒーシン安定化因子 Eso1(PIM あり)の機能が、高等動物では 2 つのコヒーシン安定化因子 Escs1/2(PIM なし)および Sororin (PIM あり)に分かれて進化したのではないかというモデルを提唱している。第 8 節では、Pds5-HIM が姉妹染色分体間接着に必要なことを示している。また、Pds5-HIM は複数のパートナータンパク質と相互作用するが、分裂酵母細胞内ではそれらに比べて Pds5 は過剰に存在することを示し、Pds5-HIM は複数のパートナータンパク質が染色体上で働くための足場となっているというモデルを提唱している。

本論文では、今まで謎であった Hrk1 のセントロメア局在制御機構について分子レベルで明らかにしている。しかも、その機構は分裂酵母とヒトにおいて保存されたものである。また、PIM-HIM によるタンパク質相互作用モジュールは Hrk1 の局在化により染色体両方向性を確立させるだけでなく、コヒーシン制御因子との相互作用も担っていることも明らかにした。染色体分配の正確性を保証するための複数の機能が、単一のタンパク質相互作用モチーフに依存していることを同定した今回の結果は、大変重要な成果であると考えられる。

なお、本論文に示されたデータは、第 1 節の一部を除き全て本論文提出者が主体となって行ったもので、本論文提出者の寄与が極めて大きいと判断する。

したがって、審査委員会は全員一致で後藤祐平に博士 (理学) の学位を授与できると認める。