

氏 名 宇和田 淳介

#### 主論文審査の要旨

近年、細胞内で合成の途中あるいは合成された後に生じるタンパク質の修飾（翻訳後修飾）がゲノム情報を管理する上で重要な役割を果たすことが分かってきた。例えば、ヒストンの N 末端テールへの多彩な翻訳後修飾によるクロマチン構造の制御は、細胞の分化と増殖のバランスを保つ上で重要な仕組みであり、その破綻がガンをはじめとする様々な疾患の原因となる。

本論文はユビキチン様の翻訳後修飾因子 Small Ubiquitin-related Modifier (SUMO) による翻訳後修飾系がヒトを含む高等動物のゲノムとクロマチンの複製の制御に関わることを示した初めての論文である。現在、高等脊椎動物では SUMO1 と、相同性の高い SUMO2 と SUMO3 の 3 つのサブファミリーが知られているが、本論文では解析が比較的進んでいる SUMO1 ではなく、SUMO2/3 を用いている。まず始めに、SUMO3 をベイトとした酵母 2 ハイブリッド法により CAF-1 の p150 サブユニットを見出した。次に、CAF-1 p150 と SUMO2/3 との相互作用を *in vitro* および *in vivo* において分子レベルで解析した。この際、SUMO2/3 との相互作用に必須な領域、SUMO interacting motif (SIM) が CAF-1 p150 の N 末端 98~105 アミノ酸であることを特定し、その進化的な保存性から、p150 と SUMO2/3 の相互作用の機能的な重要性を示した。最後に、CAF-1 p150 を恒常的に発現するヒト胎児腎組織由来 293S 細胞 (NFH-p150 293S 細胞) を使用し、その細胞を同調培養すること p150 と SUMO2/3 の局在を観察した実験と p150 を RNA 干渉法によりノックダウンさせた実験を行うことで、細胞内で CAF-1 p150 が SUMO-SIM 相互作用を介して SUMO 化タンパク質を DNA 複製部位に運び込んでいることを明らかにした。加えて、CAF-1 p150 の SIM 依存的に DNA 複製部位に運び込まれるタンパク質として SUMO の E3 リガーゼ zinc finger MIZ domain-containing protein 1 (Zimp10) および Methyl CpG DNA binding protein 1 (MBD1) の 2 種類を同定し、SUMO 化 MBD1 と連携することで MBD1-containing chromatin-associated factor 1 (MCAF1) とヒストン H3K9 メチル化酵素 SET domain bifurcated 1 (SETDB1) といったヘテロクロマチン制御因子も複製部位に取り込まれる可能性を示した。これらの結果は、DNA 複製の際、メチル化 DNA とヒストン H3 メチル化の豊富なヘテロクロマチン構造の維持に、SUMO と CAF-1 p150 の相互作用が深く関わることを示唆する。

以上、論文審査委員会は本論文がヒトを含む高等動物の細胞増殖の分子基盤の理解に大きく貢献すると考え、分子生物学と細胞生物学におけるポストゲノム研究の発展に重要な貢献をすると評価した。

審査委員	理学専攻生命科学講座担当教授	安部眞一 教授
審査委員	理学専攻生命科学講座担当教授	瀧尾進 教授
審査委員	理学専攻生命科学講座担当教授	谷時雄 教授