

氏名(本籍)	藤村亜紀子(山口県)			
学位の種類	博士(学術)			
学位記番号	博甲第6314号			
学位授与年月日	平成24年7月25日			
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当			
審査研究科	生命環境科学研究科			
学位論文題目	Analysis of Regulation of Mitotic Chromosome Dynamics by Nucleolar Factors (核小体因子による有糸分裂染色体動態制御機構の解析)			
主査	筑波大学教授	博士(薬学)	柳澤純	
副査	筑波大学教授	農学博士	馬場忠	
副査	筑波大学教授	農学博士	深水昭吉	
副査	筑波大学准教授	博士(薬学)	木村圭志	

論文の内容の要旨

核内構造体の一つである核小体は、古くからリボソーム生合成の場と考えられてきた。一方で近年、核小体因子が、細胞周期制御を初めとする様々な細胞機能に関与することが明らかにされている。核小体の構造は細胞周期を通じてダイナミックに変化する。特に細胞分裂期(M期)には、核小体が消失し多くの核小体タンパク質が細胞内に拡散する。著者は、拡散した核小体因子が細胞分裂の進行に重要な機能を果たすのではないかと考え、細胞分裂期における核小体因子の機能を解析した。

まず初めに、M期進行に関与する核小体因子のスクリーニングを行った。HeLa細胞で595種類の核小体因子をノックダウンし、細胞がM期に停止するような因子を選抜した。同定された因子のうち、機能未知なNOL11(Nucleolar protein 11)に着目し解析を行った。NOL11は、間期には核小体に局在するがM期には染色体上に局在した。NOL11をノックダウンすると、姉妹染色分体の接着や染色体整列に異常が生じることが明らかになった。その原因として、Aurora Bキナーゼの異常が考えられたため、NOL11ノックダウンのAurora Bへの影響を調べた。結果、M期前中期から中期におけるAurora Bのセントロメア局在が消失した。Aurora BはM期を代表するキナーゼで、染色体整列や紡錘体チェックポイントに関与しており、その機能にはAurora Bのセントロメア局在が必須である。Aurora Bのセントロメア局在は、ヒストンH3の3番目のスレオニンのリン酸化(H3T3ph)に依存することが報告されているため、次にNOL11のノックダウン細胞におけるH3T3phの状態を解析した。その結果、NOL11ノックダウン細胞ではH3T3phのセントロメア局在に異常が生じることが明らかになった。またその原因として、H3T3phの脱リン酸化を行うフォスファターゼPP1γ(PP1γ)の染色体結合の減弱が認められた。NOL11とPP1γの相互作用が見られたことから、NOL11がPP1γと協調してAurora Bの局在を制御していることが示唆された。

いくつかの核小体因子は、RNAに依存して核小体に局在することが知られている。また、PP1γは間期に核小体に局在し、M期には染色体上に存在することが報告されている。著者は、NOL11、PP1γの核小体局在がRNAに依存すること、さらにM期染色体への結合もRNAに依存することを見出した。pre-rRNAを初めとする核小体RNAは、M期染色体上へ結合することが報告されている。報告通り、pre-rRNAが特異的に

M期染色体上に集積することを確認した。また、NOL11とpre-rRNAが結合することも明らかになった。これらのことから、著者はpre-rRNAがNOL11、PP1 γ をM期染色体上へとリクルートし、H3T3phの制御を介してAurora Bの局在に機能しており、このメカニズムが正常なM期染色体動態の調節に必要であると考えている。

本論文では、核小体タンパク質NOL11、PP1 γ のリクルート、Aurora Bの局在制御を介してM期染色体動態制御を行うという、核小体RNAの新たな機能を示唆した。著者はNOL11、PP1 γ 以外にも、M期進行に関与するB23やMYBBP1Aといった核小体因子の染色体上への局在がRNAに依存することを明らかにしている。また、スクリーニングの結果から、およそ10%の核小体因子がM期進行に関与することが示唆されている。これらのことから、核小体RNAが染色体上で多くの核小体因子の足場となり、M期進行に寄与していることが考えられる。

審 査 の 結 果 の 要 旨

本論文で著者は、核小体が消失するM期における核小体因子の機能に着目し、解析を進めている。その結果として、M期染色体動態に関与する新規核小体因子を同定し、染色体動態の制御メカニズムを明らかにした。特に、M期染色体への局在は古くから知られていたにもかかわらず、その機能が明らかにされていなかったpre-rRNAの機能を示したことは、核小体研究と染色体動態研究の発展に貢献する発見であり、評価できる。今後、核小体によるM期進行制御という新たな分野の研究の進展が期待される。

平成24年6月6日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもとに論文の審査及び最終試験を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判定された。

よって、著者は博士（学術）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。