

氏名（本籍）	伊 <sup>い</sup> 藤 <sup>とう</sup> 翔 <sup>しょう</sup> （福岡県）
学位の種類	博士（工学）
学位記番号	甲第 1099 号
学位授与の日付	2021 年 3 月 18 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
学位論文題目	<b>Structural basis of CENP-SX chromatin and the stability of FANCM-CENP-SX complex (CENP-SX クロマチンの構造基盤と FANCM-CENP-SX 複合体の安定性について)</b>

論文審査委員（主査）教授 十島 二郎  
教授 有村源一郎 教授 清水 公徳  
准教授 西野 達哉 教授 宮崎 智

## 論文内容の要旨

生命システムが正常に機能するには、正常な染色体分配やゲノム安定性が担保されなければならない。CENP-SX 複合体は高等真核生物に広く保存されたヒストンフォールドタンパク質で二重鎖 DNA への結合能を有し、染色体分配に必要なキネトコア形成と、ゲノム安定性に重要な DNA 修復機構の両方に関与する。染色体分配においてキネトコア複合体はセントロメア領域に形成され、セントロメア DNA と微小管との連結を担う。CENP-SX 複合体はキネトコア構成因子の一つで、同じくヒストンフォールドを有する CENP-TW 複合体とさらに複合体を形成して CENP-TWSX 複合体として機能する。一方 DNA 修復機構では、CENP-SX 複合体は FA (Fanconi Anemia)原因遺伝子群の一つである FANCM と相互作用し、FANCM の安定性と機能を向上させることが知られている。CENP-TWSX 複合体はキネトコア構築で、FANCM-CENP-SX 複合体は DNA 修復で機能するために特徴的な DNA 結合を有しているが、それぞれの複合体がどのように組織され DNA 上で機能するか、その詳細は明らかになっていない。

本研究では両機構で注目される CENP-SX 複合体の DNA 結合能について生化学的、構造生物学的に解析した。ニワトリ由来の組み換えタンパク質を用いて CENP-SX の DNA 結合能を詳細に解析し、CENP-SX 複合体と DNA の結晶構造を決定した。その結果、3 つの CENP-SX 四量体が DNA を覆うように規則的に結合し、オリゴマー形成していることが明

らかになった。約 22 bp の直鎖状 DNA と 3 つの CENP-SX4 量体によって形成される非対称なユニットは、生化学的に観察された規則的な DNA 結合を説明づけた。CENP-SX-DNA 複合体がヌクレオソームとは異なるクロマチン構造を形成していることを強く示唆し、これを CENP-SX クロマチンと名付けた。さらなる生化学的、構造生物学的な解析により DNA 修復におけるパートナー因子である FANCM が CENP-SX クロマチンに取り込まれ、FANCM-CENP-SX クロマチンが形成される可能性を示唆した。FANCM-CENP-SX 複合体の安定性を調べた結果、FANCM と CENP-SX 複合体の相互作用が弱まる条件下では FANCM が解離したとしても CENP-SX クロマチンはそのまま維持されることが分かった。本論文で得られた CENP-SX 複合体による DNA 結合状態の構造基盤は、ヒストンフォールドタンパク質による新規な DNA 結合モードであり、CENP-SX クロマチン構造がパートナー因子との複合体形成の足場として重要な役割を果たしていることを示唆した。

## 論文審査の結果の要旨

本論文では、CENP-SX クロマチンの構造基盤と FANCM-CENP-SX 複合体の安定性について審査を行った。

誠実な染色体分離とゲノム安定性の維持は細胞機能と生命の永続に不可欠である。保存されたヒストンフォールド複合体である CENP-SX は、二本鎖 DNA に結合することができ、動原体の集合と DNA 修復の両方で機能する。染色体の分離には、有糸分裂紡錘体微小管とセントロメア特異的ヌクレオソームとの結合を仲介する動原体として知られるタンパク質複合体が必要である。CENP-SX は構成成分の一つであり、他のヒストン二重複合体 CENP-TW と複合体を形成する一方、DNA 修復において、CENP-SX は FA (ファンconi貧血)原因遺伝子の一つである FANCM と相互作用し、FANCM の安定性と活性を増強する。CENP-TWSX および FANCM-CENP-SX は、それぞれ動原体集合および DNA 修復において重要な役割を果たすために異なる DNA 結合特性を有する。しかし、これらの複合体がどのように組織化され、DNA 上で機能するかは完全には理解されていない。

学位論文では、大腸菌で発現させたニワトリ由来の組換えタンパク質を用いて、CENP-SX の DNA 結合活性を検討し、CENP-SX の新規 DNA 結合様式を見出した。構造解析の結果、CENP-SX-DNA ユニットは、CENP-SX テトラマーが DNA 上でオリゴマー化する非対称構造であり、約 22 bp の直鎖 DNA をカバーしていることが明らかとなり、CENP-SX の規則的な DNA 結合能の生化学的特徴を説明するとともに、CENP-SX が形成する独自の染色体構造を示唆していた。さらなる生化学的および構造的解析は、DNA 修復における CENP-SX のパートナーである FANCM が CENP-SX クロマチンに

取り込まれることを示し、これは FANCM - CENP - SX クロマチンを示唆した。FANCM - CENP - SX 複合体の安定性を調べた結果、FANCM と CENP - SX の間の相互作用に拮抗する条件下で FANCM が放出される一方、CENP - SX クロマチンは無傷のままであった。結論として、学位論文では CENP - SX DNA 結合特性の構造的基礎を明らかにし、ヒストン様複合体による新しい DNA 結合様式を提案し、CENP - SX クロマチン構造が他の蛋白質複合体の足場であることを示唆する結果となった。

本論文は染色体分配機構における新たな発見であることから、博士（工学）の学位論文として十分に価値あるものと認められる。