

論文審査の要旨及び担当者

No.1

報告番号	甲 乙 第 号	氏 名	野 崎 慎
論文審査担当者	主 査	政策・メディア研究科委員	兼環境情報学部教授 富田 勝
	副 査	政策・メディア研究科委員	兼環境情報学部教授 板谷 光泰
		政策・メディア研究科委員	兼環境情報学部准教授 内藤 泰宏
		国立遺伝学研究所教授	前島 一博
学力確認担当者：			
(論文審査の要旨)			
<p>野崎慎君の学位請求論文は Analysis of chromatin structure and dynamics with single nucleosome imaging と題され、邦題は「一分子ヌクレオソームイメージング法を用いたクロマチン構造と動態の解析」である。本研究の主たる貢献は、核内におけるヌクレオソームを、網羅的に一分子レベルで観察することができるイメージングシステムを開発し、生細胞のクロマチン構造と動態を同時に観察した点である。その結果、細胞周期を通して、クロマチンドメインが存在することを示し、さらに、コヒーシンのようなクロマチン関連タンパク質やヒストンアセチル化のようなヒストン修飾がクロマチン構造と動態の維持に重要であることを示した。</p> <p>第1章では、当該研究において注目したクロマチンとエピジェネティック制御の歴史的背景をふまえ、クロマチンの観察、後成説とエピジェネティクス、クロマチンとエピジェネティクスの関係性、そして本研究の目的について論述している。</p> <p>第2章では、ヒストン修飾とプロモータータイプの関係性について、情報解析を行い、その結果及び考察について示している。請求者は、真核生物において、全てのプロモーターがエピジェネティック制御を強く受けるのかという問いを立てた。そこで、RIKEN の FANTOM プロジェクトで報告されたプロモーターの特性分類を用い、それらのプロモーター周辺におけるヒストンのポジションと修飾、そして下流の遺伝子の発現について解析した。その結果、プロモーターの種類によって、ヒストンの並び方と修飾パターンが異なることを発見した。転写開始点のゆらぎが大きい broad promoter 周辺ではヌクレオソームが規則的に並び、かつ転写制御に関わる修飾を受けたヒストンが多いことが示された。一方、転写開始点が厳密である peak promoter 周辺では並びが規則的ではなく、かつ修飾を受けたヒストンが少ないことが示された。さらに、遺伝子発現解析によって、プロモーター種間におけるヒストン修飾による遺伝子発現制御の違いが示された。これらの結果から、プロモータータイプによってエピジェネティック制御の受けやすさは異なることが示唆された。</p> <p>第3章では、一転し、ヌクレオソームの一分子イメージングの開発とその結果について示している。第2章での研究をふまえ、クロマチンの直接的な観察の重要性を感じた請求者は、クロマチンをライブセルで観</p>			

察するために、一分子ヌクレオソームイメージング法の開発に取り組んだ。核内のヌクレオソームを一分子レベルで観察するために、光活性化型緑色蛍光タンパク質 (PA-GFP) を結合したヒストン H4 を発現する細胞を作成し、斜光照明法と光活性化型蛍光タンパク質の自発的活性化という性質を用いることで生細胞におけるヌクレオソームの一分子イメージングを成功させた。蛍光タンパク質の退色過程から、観察した一つの輝点が一分子の蛍光タンパク質に由来していることを示し、さらに観察したヌクレオソームのゆらぎが、イメージングシステムや画像解析上に由来するゆらぎでは無いことを示した。これらの結果により、生細胞内のヌクレオソームは、柔らかく動的にゆらいでいる状態であることが示唆された。

第4章では、第3章で開発した一分子ヌクレオソームイメージング法を利用して、生細胞におけるクロマチン超解像図の作成とクロマチン動態の観察について示した。ヌクレオソームが不規則に折り畳まれることによって形成されるクロマチンドメインは細胞周期を通して観察され、その直径は 230 nm 程度だと推定された。クロマチンの動態についても観察し、核内の領域において、その大きさが異なることを示した。核内部の転写が活性化しているユークロマチン領域では動態は大きく、核小体付近や核膜付近などの転写が不活性化しているヘテロクロマチン領域では動態は小さいことが示された。さらに、コヒーシなどクロマチン関連タンパク質や、ヒストンアセチル化などのヒストン修飾が、クロマチンドメインやクロマチン動態維持のために重要であることを示した。そして、ES 細胞が分化するにしたがって、クロマチンの構造と動態が大きく変化することを示した。この結果は、発生上のエピジェネティック制御において、クロマチンの構造と動態が大きな役割を持つことを示唆している。

第3章及び第4章で論じられた一分子ヌクレオソームイメージングを用いた研究成果によって、詳細なクロマチン構造と動態の特性を示した。さらに、クロマチン関連タンパク質やヒストン修飾によって、クロマチン構造と動態が制御されていることを示したことは、クロマチン研究にとって非常に重要な成果である。さらに、ES 細胞の分化が進むにつれて、クロマチンの構造と動態が変化することを示し、エピジェネティック制御がクロマチン環境を通しておこなわれていることを示唆したことは大きな成果である。本学位請求論文で示された結果は、クロマチンとエピジェネティクスに関連する研究分野の発展、そして生物における転写制御システム、ひいては発生システムの理解に大きく寄与する。ヌクレオソームの一分子イメージング法を確立し、生細胞においてクロマチン構造と動態を同時に観察したこと、また情報生物学と細胞生物学の分野横断的な研究を一人の研究者が成し遂げたことは高く評価できる。

以上により、請求者は今後独立した研究者として新規研究を立案・遂行する能力があるといえる。したがって、本学位請求論文は博士(学術)の学位授与の要求水準を満たすものと認められる。