

**【目的】** ゲノム DNA は「生命の設計図」であり、不正確な情報が次世代へと引き継がれることで細胞死やガン化の原因となる。次世代へ染色体を正確に分配する上で「コヒーシン」と呼ばれるリング状のタンパク質複合体が中心的な役割を果たすことが知られている。コヒーシンは DNA をリング内に束ねる機能（姉妹染色分体間接着、SCC）と、DNA を折りたたむ機能（ループ形成）を持つことが知られている。コヒーシンは挿入因子の働きによって DNA をリング内に包括する一方で、解離因子である WAPL によって DNA から外されるため、コヒーシン-DNA 結合は不安定である。一方で正確な染色体分配の達成にはコヒーシン-DNA 結合の安定化が必要であり、アセチル化酵素 ESCO1/2 がその役目を果たしている。ESCO1/2 はコヒーシンサブユニットの一つである SMC3 をアセチル化することで解離因子 WAPL に対してコヒーシンを抵抗性にすると考えられており、このモデルは酵母から高等真核生物でも広く保存されたメカニズムであると考えられてきた。しかしながら最近の研究により、酵母とでは ESCO1/2 によるコヒーシンの制御が SMC3 のアセチル化に依存しない可能性が示唆された。本研究では、遺伝学とプロテオミクスの融合により ESCO1/2 のアセチル化の新規基質を探索し、ESCO1/2 によるアセチル化を基盤としたゲノム構造制御メカニズムの理解を目指す。

**【方法】** *ESCO1/2* を遺伝子編集したニワトリ DT40 細胞と、質量分析計によるプロテオーム解析を組み合わせ *ESCO1/2* の新規基質の同定を試みた。野生型細胞と *ESCO2* 遺伝子変異細胞のリジンを  $^{14}\text{N}$  と  $^{15}\text{N}$  で安定同位体標識し、抗アセチル化リジン抗体により免疫沈降を実施し、アセチル化されたタンパク質の網羅的比較を行なった。また、*ESCO1/2* のターゲットをコヒーシンに絞って基質を探索するため、コヒーシンのサブユニットである RAD21 に 9xMyc タグを導入した細胞を用いて免疫沈降を行い、相互作用因子の同定を試みた。

**【結果】** 安定同位体標識を用いた SILAC (Stable Isotope Labeling using Amino Acids in Cell Culture) 法では、6 種類のタンパク質で *ESCO2* 変異依存的なアセチル化の低下が確認されたものの、染色体構造制御への関与が期待できる因子は同定されなかった。また、コヒーシンの新規相互作用因子の探索の結果、コヒーシンサブユニットとともにこれまでにコヒーシンとの相互作用の報告がないクロマチンリモデラー X が同定された。今後クロマチンリモデラー X のコヒーシン制御における役割の調査を進めていく。

コヒーシンの新規相互作用因子としてクロマチンリモデラー X を同定した

