

氏 名(本籍)	おお 大 ふち 洵 え 恵 り 理
学 位 の 種 類	博 士 ( 農 学 )
学 位 記 番 号	農 博 第 8 4 9 号
学位授与年月日	平 成 18 年 3 月 24 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
研 究 科 専 攻	農学研究科応用生命科学専攻 (博士課程)
学 位 論 文 題 目	脊椎動物の新規アクチンファミリー Arp6 による細胞核・ ゲノム機能の制御に関する研究
論文審査委員	(主 査) 教 授 西 森 克 彦 (副 査) 教 授 内 田 隆 史 助教授 原 田 昌 彦 助教授 白 川 仁

# 論文内容要旨

## 第一章 序論

近年、種々の生物のゲノム配列が明らかになるにつれ、遺伝子発現、DNA 複製、染色体分配といったゲノム機能が、生体内でどのように制御されているかについて関心が高まっている。真核生物において、細胞核内にクロマチンとして収納されたゲノム DNA は核内に均一に分散してはおらず、多様なゲノム機能に対応した構造体（クロマチン機能ドメイン）を形成して存在している。さらに、これらのゲノム機能はクロマチンの核内配置によっても制御されており、例えば、遺伝子の発現が抑制された領域であるヘテロクロマチンは核の裏打ち構造を形成する核ラミナに結合し、核膜周辺でサイレントドメインを形成している。また、核内には転写や複製が行われるファクトリーと呼ばれる領域が存在することも知られている。したがってクロマチンや核の分子構築・動態を明らかにすることは、ゲノム機能解明の上で極めて重要である。我々はアクチン関連タンパク質 (actin-related protein; Arp) がクロマチンや核の分子構築に関与すると考え、解析を行っている。

現在 Arp の解析が最も進んでいる出芽酵母においては、10 種類の Arp が同定されている。これらはアクチンとの相溶性が高い順に Arp1-10 に分類されている。我々の研究グループによって Arp4-9 が細胞核内に局在することが明らかにされ、最近ではこれらの多くがクロマチン構造変換に関する複合体に含まれることが示されている。一方でこれらの核内 Arp はクロマチン構造変換複合体としてのみ存在するのではなく、核構造形成や核の機能にも関わることも示されている。

出芽酵母 Arp6 のオルソログは最初にショウジョウバエで報告された。我々の研究グループではヒト、およびニワトリで新規の Arp を見出し、これが Arp6 のオルソログであることを明らかにし、解析を進めている。ヒト、ニワトリ Arp6 のヒト  $\beta$ -actin とのアミノ酸レベルの同一性はともに 30 % であり、他の Arp と同様に actin にはない特異的な挿入配列を有している。ヒト、ニワトリ Arp6 の発現パターンには組織特異性はなく、ユビキタスに発現することが示されている。また、ニワトリ gArp6 は初期胚のヘテロクロマチン形成が完了するまでのステージで発現量が特に高いことを見出している。

本研究では Arp6 のクロマチン構造形成を介したゲノム機能の制御や、細胞核の構築・動態への関与を分子レベルで解析することを目的とした。

## 第二章 Arp6 の細胞内局在の解析

ヒト hArp6 は当研究室で見いだされた Arp であるが、その機能についてはまだほとんど明らかにされていない。そこで、まずヒト hArp6 が酵母やショウジョウバエの Arp6 と同様に細胞核に局在するかどうかを解析した。FLAG タグを付加した hArp6 を HeLa 細胞内で発現させ、間接蛍光抗体法によりその細胞内局在を調べたところ、hArp6 は間期には核小体を除く核全体に存在し、分裂期においては染色体上を含む細胞全体に存在することが示された(Fig. 1)。この結果から、細胞核への局在は Arp6 サブファミリーに進化的に共通に保存されている性質であることが明らかになった。

## 第三章 Arp6 のタンパク質間相互作用の解析

ショウジョウバエの dArp6 が初期胚や培養細胞の核に存在しており、特にヘテロクロマチン形成に関与する代表的なタンパク質である heterochromatin protein 1 (HP1) とセントロメア近傍のヘテロクロマチン領域に共局在することが観察されている。

Arp6、HP1 とともに生物種間のアミノ酸配列の保存性が高いことから、ヒトにおいても hArp6 と HP1 が相互作用する可能性を考え、two-hybrid 法による解析を行った。HP1 オルソログとしてヒトでは HP1 $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  の 3 種類のアイソフォームが同定されているが、HP1 $\alpha$  にのみ hArp6 との結合が認められた (Fig. 2A)。また、この相互作用は大腸菌発現タンパク質を用いた pull down assay によっても確認された(Fig. 2B)。出芽酵母、および分裂酵母の Arp6 がテロメアヘテロクロマチンの形成に関与することが我々の研究グループなどで報告されており、核への局在だけでなく、ヘテロクロマチン形成への関与も進化的に保存されている Arp6 の特性であることが明らかになった。

## 第四章 誘導型 gARP6 欠損細胞の作製と gARP6 欠損の染色体分配への影響

脊椎動物 Arp6 の機能をさらに解析するため、ニワトリ DT40 細胞を用いて、gARP6 を欠損した細胞の作製を試みた。作製の過程で、gARP6 欠損細胞は致死である可能性が示されたので、培地へのテトラサイクリンの添加によってトランスジーンを発現を遮断することにより、gARP6 欠損を誘導できる細胞株を作製した(Fig. 3)。

gArp6 ゲノム構造の情報をデータベース (Ensembl Chicken Genome Server: [http://www.ensembl.org/Gallus\\_gallus](http://www.ensembl.org/Gallus_gallus)) 検索により得た。gArp6 全長をプローブとしたニワトリゲノムライブラリー (Lambda FIX II Library (Stratagene)) のスクリーニングにより、全てのエキソンを含む gArp6 ゲノム断片を単離した。これを基に、第 6 から第 11 エキソ

ンをターゲティングするベクターを構築した(Fig. 4)。ターゲットベクター (His)を制限酵素処理によって直鎖にし、ニワトリ DT40 細胞株に対してエレクトロポレーションにより導入した。その後薬剤 Histidinol 耐性細胞クローンを選択し、調製したゲノム DNA のサザンブロット解析により正しく相同組換えを起こした細胞クローンを同定した。続いてトランスジーン発現用のベクターに gArp6 cDNA 全長を組み込んだコンストラクトをこの細胞クローンに導入し、サザンブロットにより gArp6 cDNA が1コピー導入された細胞クローンを選別した。さらにターゲットベクター (Puro) を導入し、もう一方の allele が相同組換えを起こした細胞クローンをサザンブロット法により同定した(Fig. 5)。

テトラサイクリン添加によって gARP6 遺伝子の転写産物が完全に消滅することをノーザンブロットで確認した(Fig. 6)。また、ウェスタンブロットによって gArp6 の存在を確認したところ、大部分の gArp6 が誘導後 24 時間までに急激に消滅し、96 時間後には完全に消滅した(Fig. 7A)。誘導後 24 時間ごとに生細胞数を数え、増殖を調べたところ、gArp6 の消滅にともなって増殖が停止した(Fig. 7B)。このことから gArp6 が細胞増殖に必須であることが示された。

先に Arp6 と相互作用することを示した HP1 は、分裂期にはセントロメア近傍のヘテロクロマチン形成を介して染色体分配にも関与する。そこで gARP6 欠損の染色体分配への影響を解析するため、欠損誘導 4 日後の細胞を抗 $\alpha$ -tubulin 抗体を用いて免疫染色した。その結果、分裂期中期において染色体の分配異常が観察された (Fig. 8)。この結果は Arp6 が HP1 との相互作用を介して染色体分配に関与することを示しており、脊椎動物のアクチンファミリーが染色体分配に関与することを示したはじめての例である。

## 第五章 細胞周期間期核における Arp6 の染色体核内配置への関与

分裂期にはそれぞれの染色体は凝縮して光学顕微鏡で観察される棒状の構造を形成するが、間期には分散した染色体が核内に納められている。しかし間期核内でそれぞれの染色体が占める空間はオーバーラップせず、ある秩序をもって存在しており、この現象は nuclear compartmentalization と呼ばれる。この間期核における染色体配置は遺伝子発現や細胞の分化に関与することが示されている。このメカニズムは明らかにされていないが、核の骨格構造とされる核マトリクスがこの現象に関与すると考えられている。細胞質に存在するアクチンや Arp が細胞骨格に関連した機能を有することから、核に局在する Arp の核マトリクスとの関連性が推察されている。そこで、Arp6 と核マトリクスとの相互作用について解析を行った。ニワトリ DT40 細胞を界面活性剤、DNase I 処

理などにより細胞質、クロマチン、核マトリクスに分画し、抗 gArp6 抗体を用いてウェスタンブロットを行った。その結果、gArp6 はクロマチン画分に加えて核マトリクス画分に含まれることが示された(Fig. 9)。

出芽酵母において、ARP6 欠損によりテロメアの間期の核内での配置が異常になることが共同研究者の島田博士らにより明らかにされている (未発表)。そこで脊椎動物においても Arp6 が染色体の核内配置の決定に関与している可能性を考えた。ヒトやニワトリなどの高等真核生物では大型の染色体 (macro chromosome: 一般に遺伝子密度低い) は核の周辺に存在し小型の染色体 (micro chromosome: 一般に遺伝子密度高い) は核の内側に位置する傾向があり、また、大きさがほぼ等しい染色体では遺伝子密度が高い染色体が核の中心に近い場所に局在することが示されており、核の中心部では相対的に遺伝子発現が活性化されている。macro chromosome (1 番-8 番染色体、Z 染色体) と micro chromosome を識別できるプローブを用いた 3D-FISH 法により、間期核内におけるこれらの染色体の配置を比較した。その結果、gArp6 欠損誘導 4 日後では 60 %、5 日後には 90 % の細胞で、染色体の核内配置がランダムになるという異常が観察された(Fig. 10)。この結果から、gArp6 が核マトリクスの構造や機能制御を介して染色体核内配置に関与していることが示された。染色体配置への直接的な関与が示されたのは gArp6 が初めての例である。

## 第六章 マイクロアレイによる Arp6 欠損に伴う遺伝子発現変化の解析

gArp6 欠損誘導後 0、2、4、6 日後の細胞から mRNA を抽出・精製し、マイクロアレイ解析により Arp6 により発現が制御されている遺伝子を調べた。アレイに使用した全プローブセットのうち、ARP6 欠損により発現が増加した遺伝子が 22 %、減少した遺伝子が 20 % あったことから、Arp6 が global な遺伝子発現の制御に関与することが示された (Fig. 11)。出芽酵母において Arp6 が SWR1 クロマチンリモデリング複合体の構成因子であり、SWR1 の機能制御を介して多くの遺伝子発現に関与することが示されている。出芽酵母 Arp6 と同様に、ヒトにおいても hArp6 がヒト SWR1 complex に含まれることが報告されている。ヒト SWR1 複合体が出芽酵母と同様に遺伝子の転写制御を行っているかどうかについては全くわかっていなかったが、本実験で Arp6 がこれだけ多くの遺伝子発現に関与することは、Arp6 を含む SWR1 複合体が遺伝子発現制御に広く関与していることを強く示唆している。

一方、Arp6 の欠損によって間期核の染色体配置が異常になることから、macro chromosome 上の遺伝子か、micro chromosome 上の遺伝子かという点に注目して発現変

化を解析した。解析された micro chromosome 上の遺伝子総数と、macro chromosome 上の遺伝子総数の割合はそれぞれ 52 %, 37 %であるが、発現の増加が見られた遺伝子群では、micro chromosome 上の遺伝子の割合が 29 %に低下していた(Table 1)。この結果は macro chromosome が遺伝子発現の活性の低い核周辺部から核中心部に移動することで、遺伝子発現の上昇が誘導された可能性を示唆している。クロマチンリモデリング複合体の作用は染色体の大きさにより効果に差はないと考えられることから、Arp6 は染色体の核内配置の制御を介することによっても遺伝子発現に影響を与えている可能性がある。

さらに、Arp6 が HP1 とともにヘテロクロマチン形成に関与していると考えられることから、W 性染色体上の遺伝子について発現の変化を調べた。ニワトリ W 染色体はほぼ全域でヘテロクロマチン構造を形成しており、その結果、体細胞では W 染色体上の遺伝子発現は一般に抑制されている。ARP6 欠損によりアレイで解析可能であった 8 例中 3 例の遺伝子で顕著な発現量の増加が観察された(Fig.12)。通常 W 染色体上のヘテロクロマチンにより不活性化されていた遺伝子が、ARP6 欠損によるヘテロクロマチン形成の低下により、発現が誘導されたことを示唆している。

## 第七章 総合考察

Arp は種間でのアミノ酸配列の相同性が非常に高く、各サブファミリーで共通の機能をもつと予測されている。本研究によって Arp6 サブファミリーの核への局在と HP1 との相互作用を介したヘテロクロマチン形成といった特性がショウジョウバエからヒトに至るまで進化的に保存されていることを明らかにした。一方 Arp6 は出芽酵母においてもテロメアヘテロクロマチンの構築に関わるが、HP1 オルソログは出芽酵母には存在しない。しかし、出芽酵母 Arp6 はテロメアを核膜近傍にターゲットする活性を有していることから、このような核内配置を介して Arp6 がヘテロクロマチン形成に関与している可能性が考えられる。

本研究で gArp6 が核マトリクスと相互作用すること、また、ARP6 の欠損により間期核内の染色体の核内配置が異常になることを明らかにした。ほ乳類の間期核内の染色体構造については、個々の染色体は異なる領域を占め、オーバーラップはしないという現象は nuclear compartmentalization と呼ばれる。しかしながら、ほ乳類の間期の染色体配置を決めている因子についてはほとんどわかっておらず、染色体の核内配置が変化するような mutation もこれまで報告されていない。本研究によって Arp6 を初めての例とし

て示すことができた。今後、脊椎動物の間期核内染色体の配置を決定する機構の解明に *ARP6* 欠損株がひじょうに有効なツールになると予想される。

*ARP6* 欠損により多くの遺伝子の発現が変化していることがマイクロアレイ解析により示された。この遺伝子発現の変化に *Arp6* はいくつかの異なった機構に関与していることが予想された。すなわち①*SWR1* 複合体の構成因子として局所的なクロマチン構造の変換を介して ②*HP1* と共にヘテロクロマチンの形成を介して ③核内の染色体配置を介して、といった3つの機構である。このような *Arp6* の核内での多様な機能は、アクチンが細胞質において多様な機能を有することに何らかの関連があるかもしれない。また、これらの *Arp6* の機能の中でも、発現の上昇が見られた遺伝子群で *micro chromosome* 上の遺伝子の割合が変化していたことは興味深い。今後、発現量に変化の見られた遺伝子に対する 3D-FISH を行うことで、染色体の核内配置が遺伝子の転写に影響を与えることを示す、直接的な証拠を得られるかもしれない。

染色体分配の異常や、染色体核内配置の異常がガン細胞で観察されており、ゲノム機能と疾病との関連が指摘されている。また、ショウジョウバエを用いて発生の初期過程で、核周辺部と内部に存在するゲノム領域がダイナミックに変化することが観察されている。したがって、今後 *Arp6* の機能を解析することは、ゲノム機能の制御メカニズムのみならず、疾病や発生の機構の解明にもつながると考えられる。

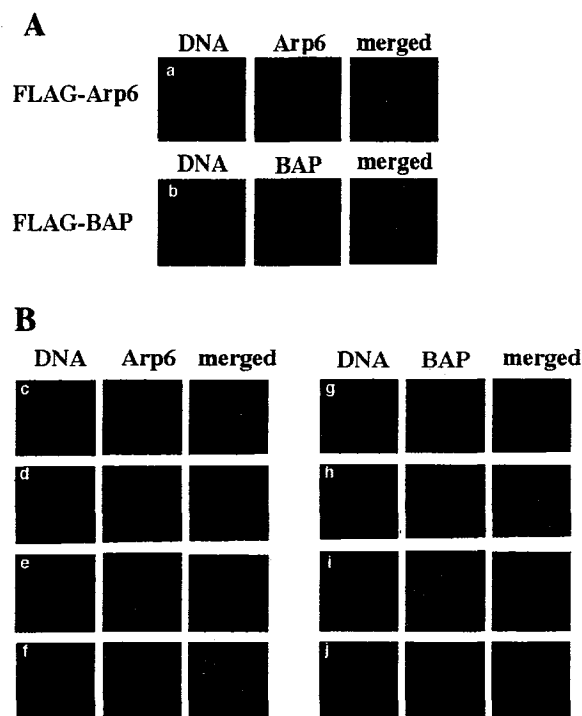


Fig. 1: Subcellular localization of Arp6.

(A) HeLa cells transformed with a plasmid coding for human Arp6 fused with FLAG-tag (FLAG-Arp6) (panels a) and for bacterial alkaline phosphatase (BAP) fused with FLAG-tag (FLAG-BAP) (panels b) were observed by fluorescence microscopy. FLAG-tagged proteins were detected by fluorescein-linked antibodies. DNA was visualized with 4, 6-diamidino-2-phenylindole (DAPI). The FLAG-Arp6 signals were observed preferentially in the nucleus. (B) Subcellular localization of FLAG-Arp6 (panels c-f) and FLAG-BAP (panels g-j) in mitotic stages of HeLa cells. Cells transformed with the plasmids were observed in prophase (panels c and g), metaphase (panels d and h), anaphase (panels e and i), and telophase (panels f and j). In the mitotic stages, while the distribution of FLAG-BAP was exclusive of chromosomes, FLAG-Arp6 was localized the cells including the area off the chromosomes.

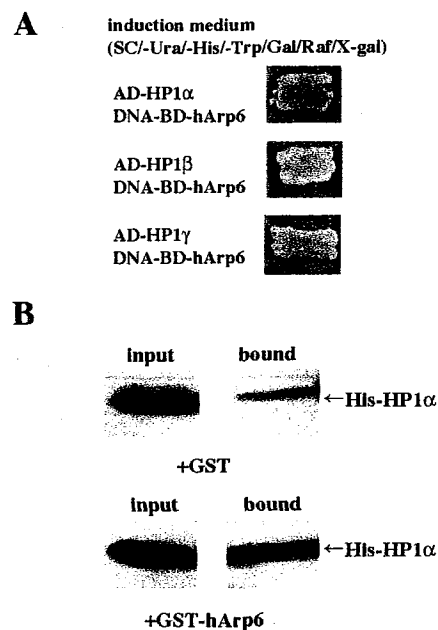
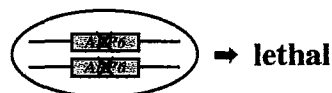


Fig. 2: Interaction between human Arp6 and HP1.

(A) Two-hybrid analysis for detection of the interaction between human Arp6 and HP1 isoforms. Each of the prey plasmids expressing the listed HP1 isoforms fused with the activation domain (AD) were introduced into the yeast strain EGY [p8op-LacZ] with a DNA-binding fusion bait construct, DBD-Arp6. The color of the transformants was observed on an induction medium containing X-gal to induce lacZ reporter activation. Only the combination of DBD-Arp6 and AD-HP1 $\alpha$  turned the colony blue. (B) *In vitro* binding of bacterially expressed human Arp6 and HP1 $\alpha$ . GST and human Arp6 fused with GST were purified, and used in a pull-down assay with bacterially purified HP1 $\alpha$  fused with a His6-tag. Co-precipitated HP1 $\alpha$ , detected with an anti-His6-tag antibody, is shown in the right panels, input HP1 $\alpha$  fused with His6-tag is shown in the left panels. HP1 $\alpha$  co-precipitated with Arp6 tagged with GST, but not with GST.

### gARP6 knock out (KO) cell



### Tet-inducible gARP6 KO cell

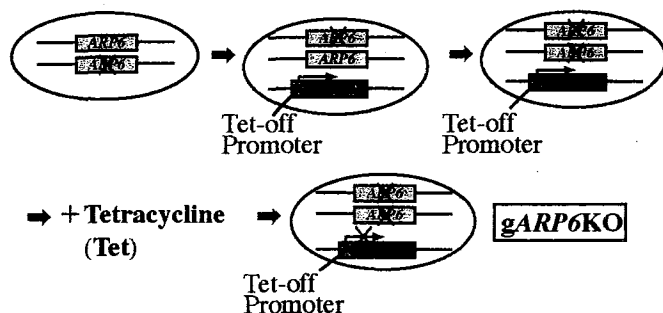


Fig. 3: Production of a *ARP6*<sup>-/-</sup> clone cell carrying a chicken *ARP6* transgene under the control of a Tet-repressible promoter.



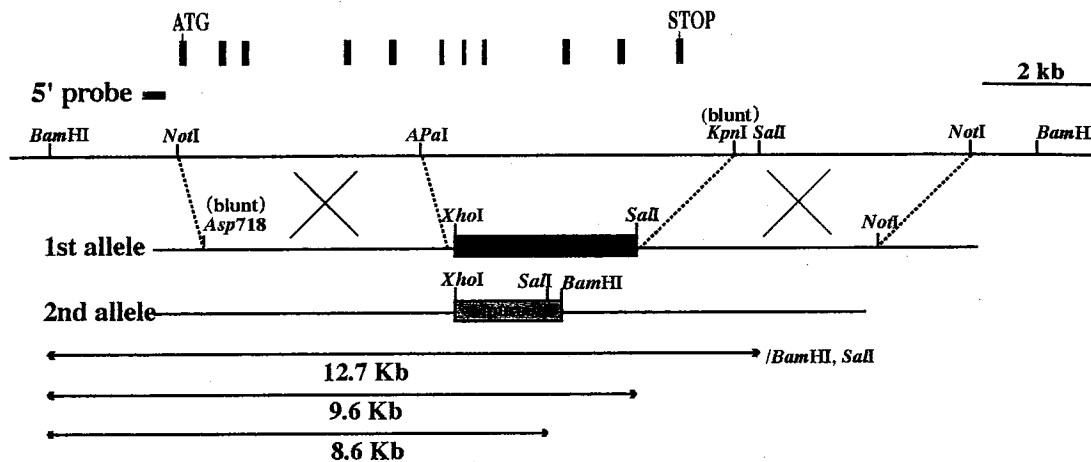


Fig. 4: Restriction maps for the targeted integration of the *gARP6* knock out constructs. Black boxes (top) indicate the positions of exons, and the targeted constructs are expected to disrupt six exons. The position of the probe used for Southern hybridization is indicated as a blue bar.

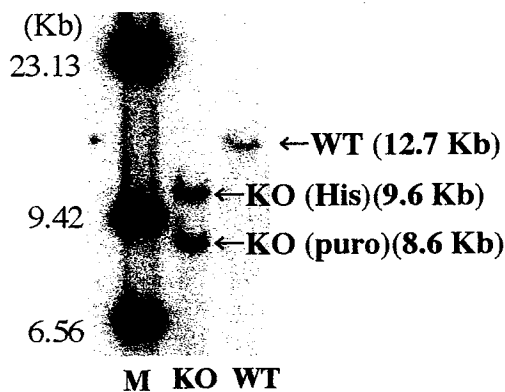


Fig. 5: Restriction analysis of the targeted integration of the *gARP6* knock out constructs. Genomic DNAs from DT40 cells (WT) and from a cell clone obtained after second round targeting and random integration of the *gARP6* transgene were analyzed by Southern hybridization with the probe indicated in Figure 3. In the cell clone, the knock out of both allele was confirmed.

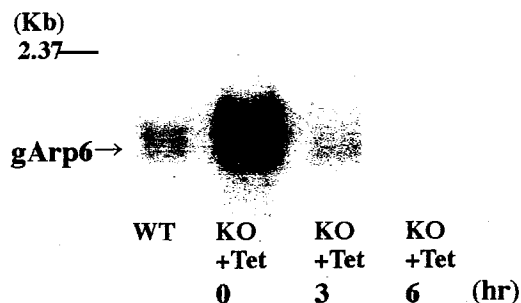


Fig. 6: Northern-blot analysis of *gArp6* extracted from the *gARP6* knock out cells. Total RNA was isolated from the cells at the indicated times after the addition of tet. RNA samples were electrophoresed on formaldehyde gels. Northern blot hybridization was carried out with the full-length *gArp6* cDNA as a probe.

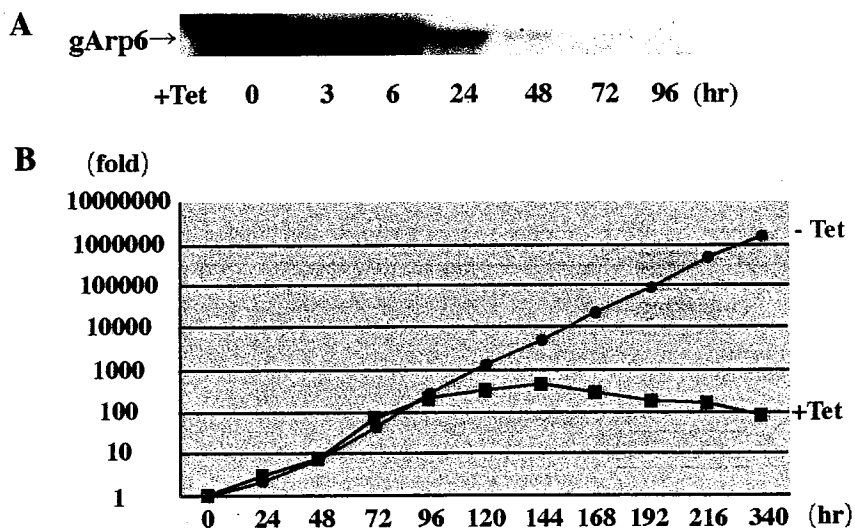


Fig. 7: Growth defect of DT40 cells by the knock out of *gARP6*.

(A) Western blot analysis of whole-cell extracts with an anti-*gArp6* antibody at the indicated times after the addition of tet. The position of *gArp6* indicated as an arrow. (B) Representative growth curves for the indicated cell cultures. Tet was added at time 0 hr to *gARP6* knock out cell culture (+Tet). The number of living cells was detected by trypan blue-staining.

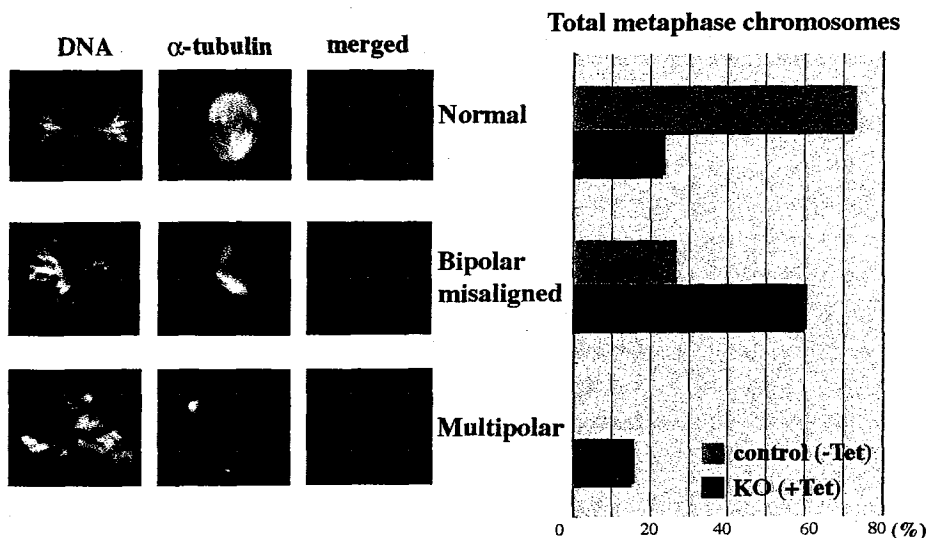


Fig. 8: Abnormalities of spindle organization and chromosome segregation in *gARP6* knock out cells.

Chromosome morphology (blue) and  $\alpha$ -tubulin staining (green) were observed in the presence of tet (left). DNA was counter stained with DAPI. A cell showing the normal staining pattern for  $\alpha$ -tubulin (upper panel), a cell in which chromosomes were not aligned at the metaphase plate (middle panel), and a cell with multipolar spindles (lower panel) were shown as examples. The number of the aberrant cells following suppression of *gARP6* transgene expression after addition of tet were counted and compared to control cells (right).

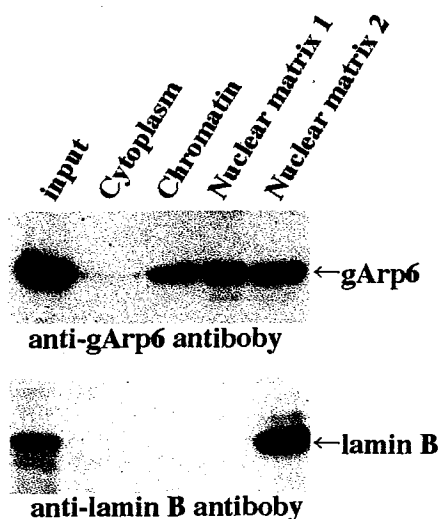


Fig. 9: Interaction of *gArp6* with the nuclear matrix.

Cells were sequentially extracted with CSK buffer (cytoplasm), DNase I (chromatin), 2 M NaCl (nuclear matrix1), and the remaining pellet was dissolved in the water (nuclear matrix 2). An equivalent aliquot of each fraction was subjected to immunoblotting with anti-*gArp6* antibody (upper panel) or anti-lamin B monoclonal antibody (lower panel).

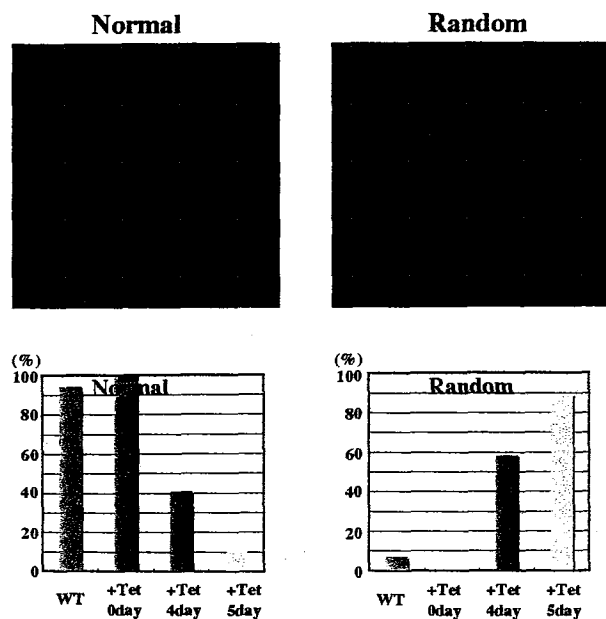


Fig. 10: 3D-FISH of *gARP6* knock out cells.

We performed the fluorescent *in situ* hybridization to three-dimensionally preserved cell nuclei by using specific DNA probes for macro chromosomes and micro chromosomes. In control cells, most of the nuclei possess peripheral macro chromosomes and internal micro chromosomes as shown in the left panel (Normal). On the other hand, 60-90% of nuclei in *gArp6* knock out cells possess randomly distributed chromosome as shown in the right panel (Random).

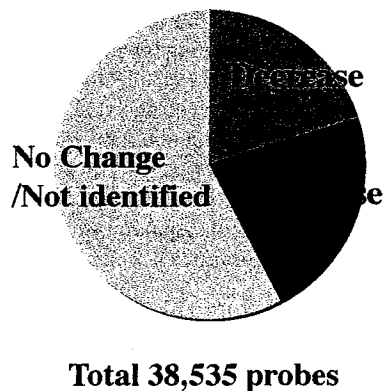


Fig. 11: Microarray analysis with *gARP6* knock out cells. The circle graph shows the ratio of probes whose signal ratio was changed at least 1.25-fold in knock out cell.

	macro chromosome	micro chromosome	ratio
<b>Total</b>	51.5	36.6 (%)	1.4
<b>Decrease</b>	46.9	35.6	1.3
<b>No change</b>	49.7	34.9	1.4
<b>Increase</b>	58.2	29.5	2.0

Table 1: The relationship between the chromosome types and the ratio of genes whose signal ratio was changed in *gARP6* knock out cell. Comparison of the ratio of genes on macro- and micro-chromosomes in *gARP6* knock out cells.

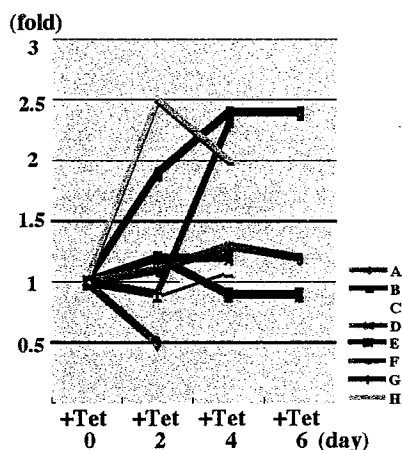


Fig. 12: Change in the transcription of genes on W-chromosome. W-chromosome is highly condensed and forms W heterochromatin. Because of the heterochromatin formation, genes on W-chromosome are transcriptionally inactivated in somatic cells. Expression level of some genes on W-chromosome were significantly increase in *gARP6* knock out cells.

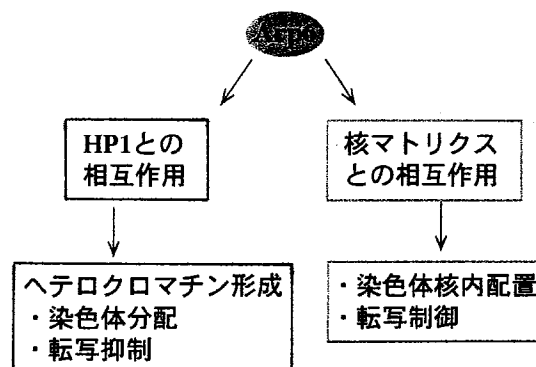


Fig. 13: 今回の研究で示されたArp6の機能

## 論文審査結果要旨

真核生物細胞の核内にクロマチンとして収納されたゲノム DNA は、多彩なゲノム機能に対応しクロマチン機能ドメインを構成している。大淵恵理の本博士論文では、クロマチン・核の分子構築と動態を明らかにし、ゲノム機能を解明する為、クロマチンや核の分子構築への関与が強く予想されるアクチン関連蛋白 (Actin-related protein ; Arp) のうち Arp6 に関し、クロマチン構造形成を介したゲノム機能の制御、細胞核の構築・動態への本分子の関与を分子レベルで解析した。FLAG タグによる間接蛍光抗体法により出芽酵母 Arp6 のオルソログとして見いだされたヒト Arp6 (hArp6) の細胞内局在を解析し、これが間期には核小体以外の核全体に局在し、分裂期には染色体上を含む細胞全体に分布する事を見いだした。この細胞内分布の特性は Arp6 サブファミリーの共通の性質と考えられた。次にヘテロクロマチン形成に関与する代表的タンパク質である heterochromatin protein 1 (HP1) と hArp6 の相互作用を、両蛋白のセントロメア近傍ヘテロクロマチン領域での共局在から推定し、解析を進めた。Two-hybrid 法と大腸菌発現蛋白による pull down assay によりヒト Hp1 $\alpha$  と Arp6 の結合を示し、Arp6 がヘテロクロマチン形成へ関与することを明らかにした。次に、エワトリ Arp6 遺伝子 (gARP6) を欠損したニワトリ DT40 細胞を作成して脊椎動物細胞内での Arp6 の機能を明らかにする事を試みた。全てのエキソンを含む gARP6 ゲノムはデータベースとニワトリゲノムライブラリーのスクリーニングにより取得した。これよりターゲットベクターを作成し、DT40 細胞株に導入、相同組み替えにより gARP6 の片側アリルを欠損した細胞株を取得し、別の薬剤選択マーカで再度ターゲットベクターを導入し、gARP6 両アリルの欠失した細胞株を得た。作成の過程で gARP6 欠損が致死となる可能性が示され、培地へのテトラサイクリン (Tc) 添加により gARP6 トランスジーンの発現を遮断できる系を併用し、gARP6 欠損を誘導できる細胞株を樹立した。この細胞株では、Tc 添加による gARP6 トランスジーンの発現停止誘導後 24 時間で細胞内の gARP6 がほぼ、また 96 時間で完全に消失した。細胞内 gARP6 の消失に伴い細胞の増殖も停止した。この過程で、分裂中期に於ける染色体の分配異常が観察され、Arp6 が HP1 との相互作用を介して染色体分配に関与することを示した。これは脊椎動物のアクチンファミリーが染色体分配に関与することを示した初めての例である。次に Arp6 と核マトリクスの相互作用について解析し、gArp6 が核マトリクス画分にも含まれることを示した。また、この gARP6 欠損 DT40 細胞を用い、通常遺伝子密度に応じた秩序を見せる染色体の核内配置が、ランダムになることを見だし、gArp6 が核マトリクスの構造や機能制御を介して染色体の核内配置に関与していることを初めて示した。さらに、gARP6 欠損細胞に由来する mRNA のマイクロアレイ解析をおこない、全遺伝子の 22% の発現上昇、20% の発現減少を見いだした。この結果は Arp6 が global な遺伝子発現の制御に関与することを示した。染色体分配の異常や染色体核内配置の異常はガン細胞などで観察されており、また発生の初期過程でのゲノム領域のダイナミックな変化も報告されている。染色体の分配やその核内配置に関与する Arp6 の機能解析は、今後ゲノム機能の制御メカニズム、疾病や発生機構の解明等にもつながるものと予想される、と総括した。

この博士論文の内容は本農学研究科の基準に照らして十分に学位取得に値するものと判断され、審査員一同より候補者は課程博士学位授与に十分な資格を有するものとの高い評価を受けた。