



## Nagoya City University Academic Repository

学位の種類	博士（生体情報）
報告番号	甲第 1500 号
学位記番号	第 13 号
氏名	西淵 剛平
授与年月日	平成 27 年 3 月 25 日
学位論文の題名	HP1 のリン酸化修飾制御とその機能の解明
論文審査担当者	主査： 中山 潤一 副査： 湯川 泰， 田上 英明， 大隅 圭太

## 学 位 論 文 内 容 要 旨 (1/2)

氏 名	西淵 剛平	提出年月日	平成 27年 1月 16日
主論文名	HP1のリン酸化修飾制御とその機能の解明		
<p>真核生物は非常に長大なゲノム DNA を核という小さな領域に収納する必要がある。そのためゲノム DNA は、ヒストンという進化的に高度に保存された塩基性タンパク質に巻き付いたヌクレオソーム構造として存在し、さらにこの構造が高度に折りたたまれコンパクトにまとめられている。一方で細胞は発生や分化、細胞周期、外部環境に応じて遺伝子の発現を適切なレベルに調節する必要があり、その際このクロマチン構造を部分的に緩めたり、きつくしたりするメカニズムが重要となってくる。このようなクロマチンの構造変換は、DNA の一次配列の変化を伴わない遺伝現象として知られる「エピジェネティクス」を制御する重要な分子機構の一つとして注目されている。特に、クロマチンの主要構成因子であるヒストンの翻訳後修飾は、このエピジェネティックなクロマチンの構造変換において重要な役割を果たしている。</p> <p>ヒストンにはアセチル化、メチル化、リン酸化、ユビキチン化など様々な修飾が付加される。中でもヒストンのメチル化は、付加される残基によってその役割が大きく異なることが知られている。ヒストン H3 の 9 番目のリジン残基のメチル化修飾 (H3K9me) は、ヘテロクロマチンと呼ばれる凝縮したクロマチン構造の構築に必要である。反対に、ユークロマチンと呼ばれる緩んだ状態の活性化型クロマチン領域では、転写が活発な遺伝子のヒストン H3 の 4 番目のリジン残基にメチル化修飾 (H3K4me) が付与される。ヒストンのメチル化修飾はメチル化酵素、脱メチル化酵素によって可逆的に制御される反応であり、メチル化ヒストンを認識するリーダータンパク質によってその情報が読み取られる。</p> <p>これまでさまざまなモデル生物の解析から、ヘテロクロマチンに特徴的な H3K9me を認識して結合する Heterochromatin Protein 1 (HP1) が、抑制的なクロマチン構造の形成に重要な役割を果たしている事が明らかにされている。HP1 には <math>\alpha</math>、<math>\beta</math>、<math>\gamma</math> の 3 種類のファミリータンパク質が存在するが、どの HP1 も自身のクロモドメインを介して H3K9me に結合し、クロマチン構造変換を促進すると考えられている。一方で、HP1 自身が様々な翻訳後修飾を受けることが知られている。これまでに、哺乳類の HP1<math>\alpha</math> の N 末端側のセリンクラ</p>			

## 学位論文内容要旨(2/2)

氏名	西淵 剛平	提出年月日	平成 27年 1月 16日
主論文名	HP1のリン酸化修飾制御とその機能の解明		
<p>スターが恒常的にリン酸化されていること、そしてこのHP1<math>\alpha</math>のリン酸化がH3K9meへの結合を促進していることが明らかにされている。また、HP1<math>\alpha</math>が分裂期特異的にリン酸化されていることも示されている。しかしながら、依然としてHP1のリン酸化修飾がどのようにクロマチン結合に寄与しているのか、その詳細には不明な点が多く残されている。そこで本研究では、まずHP1<math>\alpha</math>のリン酸化を制御する酵素を探索し、そこで同定したリン酸化酵素を大腸菌内で共発現させる方法によってリン酸化HP1<math>\alpha</math>を大量調製した。次に、DNAやH3K9meヌクレオソームに対するリン酸化HP1<math>\alpha</math>の生化学的な性質を検証した。その結果、興味深いことに、HP1<math>\alpha</math>のN末端側で起こる恒常的なリン酸化は、HP1<math>\alpha</math>とDNAとの相互作用を変化させ、その結果としてH3K9未修飾のヌクレオソームに対する親和性を大きく減少させることで、H3K9meヌクレオソームに対する特異性を高めていることが明らかになった。また、HP1<math>\alpha</math>の分裂期特異的に起こる付加的なリン酸化は、さらなる核酸結合能の低下を示すことが分かった。さらに、細胞を用いた解析ではこのリン酸化が分裂期クロマチンからの解離に寄与していることが明らかになった。一方で、分裂期の染色体においてHP1はその大部分がクロマチンから解離することが報告されている。一般的に、HP1のクロマチンからの解離は、H3K9の隣の10番目のセリン残基がリン酸化されることによって起きると考えられている。しかし、本研究によって分裂期におけるHP1<math>\alpha</math>自身のリン酸化が、この解離の過程に関与していることが示唆された。以上の結果より、HP1のリン酸化修飾は、HP1のクロマチン結合をダイナミックに制御することで、ヘテロクロマチン動態制御に寄与していると考えられる。</p> <p>今回、HP1<math>\alpha</math>のリン酸化修飾とヒストンのメチル化修飾の認識機構に着目したが、その他にもこれまでに数多くのヒストン修飾が発見され、その情報を認識する因子が同定されている。しかしながらそのほとんどは、認識を担うタンパク質の部分ドメインのみで議論され、翻訳後修飾を考慮しているものも少ない。より生体内に近い条件で行われた本研究の成果が、今後のクロマチン情報の認識機構の解明を目指す研究に役立つことが期待される。</p>			

## 博士論文審査結果の要旨及び最終試験結果の要旨

論文提出日	平成 27 年 1 月 16 日
学位試験日	平成 27 年 2 月 24 日

受付番号	1	論文提出者	西淵 剛平
博 士 論 文 審 査 結 果			
学 位 審 査 委 員	主 査	中山 潤一	副 査 湯川 泰、田上 英明、大隅 圭太
主論文題目	HP1 のリン酸化修飾制御とその機能の解明		
論文審査結果の要旨			
<p>真核生物のDNAは核内でクロマチンとして存在している。このクロマチンの構造変換には、ヒストンの翻訳後修飾やその修飾を認識するタンパク質が関与しているが、その認識の詳細な分子機構については不明な点が数多く残されている。</p> <p>本論文では、ヘテロクロマチン形成に重要な役割を果たすHeterochromatin Protein 1 (HP1)について、そのリン酸化修飾の動態と機能を解析し以下の点を明らかにした。1) N末端のセリン残基クラスターのリン酸化がDNAへの非特異的な結合を抑制し、ヘテロクロマチンに特徴的なメチル化修飾 (H3K9me) を持つヌクレオソームへの選択的な結合に寄与している。2) 細胞分裂期 (M期) 特異的に起きるヒンジ領域のリン酸化部位、およびその制御に関わるリン酸化酵素、脱リン酸化酵素を同定し、このリン酸化がM期におけるHP1のクロマチン結合を制御している。</p> <p>本論文で明らかになったHP1の翻訳後修飾とその機能に関する成果は、クロマチン構造変化におけるHP1の機能解明につながる重要な研究と考えられる。また本研究では、リン酸化された全長HP1と再構成ヌクレオソームを用いた独自の実験系を用いて研究を遂行しており、これまで部分的なドメインと修飾ペプチドを用いた研究による知見をさらに深める成果であると評価された。</p>			
最 終 試 験 結 果			
最 終 試 験 担 当 者	主 査	中山 潤一	副 査 湯川 泰、田上 英明、大隅 圭太
最終試験結果の要旨			
<p>審査委員会は、申請者の公聴会における研究発表と質疑応答、および学位審査会における応答から、専門領域や周辺学問領域についての十分な学識と研究遂行能力を持つものと判断した。多岐にわたる諮問に対しては概ね適切に対応していたが、今後さらなる研鑽を積むことが期待される。精緻な生化学的実験手法を駆使して、多くの新事実を明らかとした点は高く評価される。国内外の複数の学会における発表経験も評価できる。これらを総合し、審査委員会は申請者が博士の学位 (生体情報) に値すると判断した。</p>			