

|          |                                  |
|----------|----------------------------------|
| 氏名       | ひらの やす ひろ<br>平野泰弘                |
| 学位(専攻分野) | 博士(生命科学)                         |
| 学位記番号    | 生博第110号                          |
| 学位授与の日付  | 平成19年3月23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   | 生命科学研究所統合生命科学専攻                  |
| 学位論文題目   | 核膜内膜特異的タンパク質と染色体クロマチンの結合機構に関する研究 |

論文調査委員 (主査) 教授 竹安邦夫 教授 上村 匡 教授 佐邊壽孝

### 論文内容の要旨

核膜は細胞周期依存的に崩壊と再形成を繰り返すダイナミックな構造体である。核膜は、ヘテロクロマチン構築や遺伝子発現に密接に関連しており、細胞分裂後の細胞が正常に機能するために、正確に再構成されなければならない。本研究では、核膜再構成の最初の段階である核脂質膜の染色体へのターゲティングに関して、emerin とラミン B 受容体 (LBR) の 2 つの核膜内膜特異的タンパク質に着目し、これらの染色体への結合機構、および結合調節機構を解析した。

emerin は Emery-Dreifuss 型筋ジストロフィー (EDMD) の原因遺伝子として見出された核膜内膜特異的なタンパク質であり、核膜再構成の初期段階に染色体上に集積してくることが報告されていた。そこで、私は emerin と染色体クロマチンの結合調節機構を、emerin の細胞周期依存的なリン酸化という側面から検討し、以下の結果を得た。emerin が染色体クロマチンと結合には、LEM ドメインを介してその結合因子である barrier-to-autointegration factor (BAF) と結合することが必須であり、解離には、分裂期特異的な emerin のリン酸化が必要となることを明らかにした。また、リン酸化ペプチドの特異的濃縮分離系とマスマスペクトロメトリーを組み合わせた解析系により、emerin の分裂期特異的なリン酸化は少なくとも <sup>49</sup>Ser, <sup>66</sup>Ser, <sup>67</sup>Thr, <sup>120</sup>Ser, <sup>175</sup>Ser の 5 箇所で見出された。これらの中でも、特に <sup>175</sup>Ser のリン酸化が、emerin と BAF の結合調節に重要な役割を果たすことを示した。本研究では、現在解析を行なっている LEM ドメインを持つタンパク質の 1 種である MAN1 の結果も含め、「LEM タンパク質の細胞周期依存的なリン酸化・脱リン酸化は、BAF との結合・解離調節を行なうための LEM タンパク質共通の機構である」という概念を提起した。

一方、LBR は、核脂質膜の染色体クロマチンへの結合に必須であることが報告されていたが、その結合機構については未知な部分が多かった。そこで、私は LBR の染色体クロマチン結合部位を決定し、それらの結合力という観点から LBR とクロマチンの結合を評価することを試みた。LBR 断片を用いた解析から、LBR の新規 DNA 結合ドメインとして NM 領域 (1-53 残基) を見出し、LBR は NM・RS 領域 (53-69 残基) で DNA と、RS 領域でコアヒストンと結合することを示した。また、LBR と染色体クロマチンの結合力の測定により、LBR と染色体クロマチンの結合は NM・RS 領域の協奏的な効果が必要であることを明らかにした。

本研究は *in vitro* の実験系を用いた解析から、核脂質膜の染色体へのターゲティングが、核膜内膜タンパク質のリン酸化・脱リン酸化によって制御されることを示唆するものである。

### 論文審査の結果の要旨

真核生物の核膜は、細胞周期依存的に崩壊・再形成を繰り返す。本研究は、核膜再形成機構の解明に向け、その最初の反応である核脂質膜のクロマチンへのターゲティング機構の解析を行なった。本研究では、特に核膜再形成の際、染色体表層に最も早く集積してくることが知られている emerin とラミン B 受容体について解析を進め、以下の結果を得たことが評価できる。

### 1) emerin と染色体クロマチンの結合調節機構（第2章1項）

emerin とクロマチンの結合調節は、emerin の細胞周期依存的リン酸化によってなされることを示した。特に、emerin が分裂期で高度にリン酸化されることにより、その結合タンパク質である BAF から解離することが重要であることを示した。この結果を元に emerin の分裂期リン酸化部位として、<sup>49</sup>Ser, <sup>66</sup>Ser, <sup>67</sup>Thr, <sup>120</sup>Ser, <sup>175</sup>Ser の5箇所を同定し、この中でも特に <sup>175</sup>Ser のリン酸化が emerin と BAF の結合を調節することを明らかにした。一方、emerin と同じく LEM ファミリーに属する MAN1 も、emerin 同様分裂期でリン酸化され、BAF から解離することを示した。以上の結果から、「LEM ファミリーのリン酸化が BAF との結合調節に重要な役割を果たす」というモデルを提唱した。

### 2) LBR とクロマチンの結合機構（第2章2項）

3つの LBR 断片を用いて、LBR のクロマチン結合部位を検討し、NM・RS 領域で DNA と、RS 領域でヒストンと結合することを示した。また、原子間力顕微鏡を用いた分子間結合力の測定という特徴的な測定系を用いて、LBR とクロマチンの結合に及ぼす各結合部位の影響を検討し、LBR とクロマチンの結合が、NM・RS 両領域の協奏的效果によって安定化されることを示した。

核膜の構成タンパク質の多くが核膜病と総称される一群の病気の原因となるなど、核膜は細胞全般の機能に必須の構造体であるといえる。本研究で得られた結果は、核膜再構成の基礎となる、核膜内膜特異的タンパク質とクロマチンの結合に新たな知見をもたらした研究として、一般的な分子細胞生物学にも寄与することが大きい。よって、本論文は博士（生命科学）の学位論文として価値あるものと認めた。

なお、平成19年1月23日、論文内容及びそれに関連した分野にわたり口頭試問を行った結果、博士（生命科学）の学位を授与される能力が十分にあるものと認めた。