

学位審査報告書

(ふりがな) 氏名	むらまつ だいすけ 村松 大輔
学位(専攻分野)	博士(生命科学)
学位記番号	生博第号
学位授与の日付	平成25年9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	生命科学研究科 統合生命科学 専攻
(学位論文題目)	HP1非依存的な Suv39h1によるペリセントロメアヘテロクロマチンの形成
論文調査委員	(主査) 藤田 教授 石川 教授 松本 教授

生命科学研究科

(続紙 1)

京都大学	博士 (生命科学)	氏名	村松 大輔
論文題目	HP1非依存的なSuv39h1によるペリセントロメアヘテロクロマチンの形成		
(論文内容の要旨)			
<p>核内のDNAの中で、ペリセントロメア領域は高度に凝縮したヘテロクロマチン構造をとっている。この領域の特徴としては、ヒストンH3の9番目のリジン残基のトリメチル化修飾 (H3K9me3) とヘテロクロマチンタンパク質HP1の蓄積が挙げられる。このH3K9me3修飾は、主にリジンメチル化酵素であるSuv39hにより触媒される。そして、HP1はSuv39hと親和性を持ち、またメチル化されたH3K9を認識することでペリセントロメア領域に蓄積することがわかっている。本研究では、このSuv39hとHP1との間の相互作用がペリセントロメア領域のヘテロクロマチン構造の構築においてどのような機能を果たしているのかを明らかにするための解析がなされた。まず <i>Suv39h1/h2</i> のダブルノックアウトES (<i>Suv39h dn</i> ES) 細胞へ野生型Suv39h1とHP1との結合領域を欠いた変異型Suv39h1を導入した安定発現株を樹立し、これら細胞株のペリセントロメア領域を免疫染色にて観察した。その結果、野生型Suv39h1および変異型Suv39h1の両安定発現株において、ペリセントロメア領域のH3K9me3修飾の蓄積の回復がみられた。しかし、野生型Suv39h1発現株においてはペリセントロメア領域へのHP1、ATR X、H4K20me3修飾の蓄積の回復が見られたのに対して、変異型Suv39h1発現株ではこれらの回復がほとんど観察されなかった。この結果は、ペリセントロメア領域においては、HP1との結合非依存的にSuv39hがペリセントロメアに局在化し、H3K9me3修飾の蓄積を行うことができること、Suv39hとHP1の二分子間の相互作用はHP1を安定的にペリセントロメア領域に局在させATR XやH4K20me3修飾の蓄積を誘導するために必要であることを示唆するものであった。さらに、これら細胞株におけるペリセントロメア領域のDNAのメチル化状態を調べたところ、<i>Suv39h dn</i> ES細胞で低下していたDNAメチル化は野生型だけではなく、HP1と結合しない変異型Suv39h1を発現させても回復することがわかった。また、マウスのペリセントロメア領域を構成しているメジャーサテライトリピートの発現はSuv39hに依存して転写抑制を受けているが、<i>Suv39h dn</i> ES細胞で脱抑制されたメジャーサテライトリピートの転写は、変異型Suv39h1によっては不完全にしか抑えられないことがわかった。今回の研究により、ペリセントロメア領域においては、Suv39hはHP1結合非依存的にH3K9me3修飾の誘導及び確立を行うことができるが、完全な転写抑制的ヘテロクロマチン構造の形成にはHP1等のヘテロクロマチン因子の動員が必要であることが示唆された。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

真核生物のテロメア領域、セントロメア領域やY染色体などは高度に凝縮した不活性なクロマチン構造を取っているとされており、ヘテロクロマチンと呼ばれている。セントロメアの近傍、ペリセントロメア領域も高度に凝縮した不活性なヘテロクロマチン構造を取っており、この領域の特徴としては、ヒストンH3の9番目のリジン残基のトリメチル化修飾(H3K9me3)とヘテロクロマチンタンパク質HP1の蓄積が挙げられる。この領域のH3K9me3修飾は、主にヒストンメチル化酵素であるSuv39hにより触媒されている。そして、HP1はSuv39hと親和性を持ち、またメチル化されたH3K9を認識することでペリセントロメア領域に蓄積することがわかっている。このことから、一旦Suv39hがHP1の足場であるH3K9me3修飾を触媒すると、それを認識したHP1がSuv39hをペリセントロメア領域へさらに誘導、このサイクルが回ることがペリセントロメア領域のヘテロクロマチン形成の確立に重要であると推察されている。しかし、これまで直接的な証拠はなかった。

そこで今回、申請者は、Suv39hとHP1との間の相互作用に着目し、ペリセントロメア領域におけるSuv39hによるH3K9me3修飾の確立と抑制的ヘテロクロマチン形成におけるHP1との関係性の意義を明らかにすることを目的に研究を進めた。まず *Suv39h1/h2* のダブルノックアウト ES (*Suv39h dn* ES) 細胞へ野生型Suv39h1とHP1との結合領域を欠いた変異型Suv39h1を導入した安定発現株を樹立し、これら細胞株のペリセントロメア領域を免疫染色にて観察した。その結果、野生型Suv39h1および変異型Suv39h1の両安定発現株において、ペリセントロメア領域のH3K9me3修飾の蓄積の回復がみられた。しかし、野生型Suv39h1発現株においてはペリセントロメア領域へのHP1、ATRAX、H4K20me3修飾の蓄積の回復が見られたのに対して、変異型Suv39h1発現株ではこれらの回復がほとんど観察されなかった。この結果は、ペリセントロメア領域においては、HP1との結合非依存的にSuv39hがペリセントロメアに局在化し、H3K9me3修飾の蓄積を行うことができること、Suv39hとHP1の二分子間の相互作用はHP1を安定的にペリセントロメア領域に局在させATRAXやH4K20me3修飾の蓄積を誘導するために必要であることを示唆するものであった。さらに、これら細胞株におけるペリセントロメア領域のDNAのメチル化状態を調べたところ、*Suv39h dn* ES細胞で低下していたDNAメチル化は野生型だけではなく、変異型Suv39h1を発現させても回復することが明らかとなった。また、この領域を構成しているメジャーサテライトリピートの転写はSuv39hに依存して抑制を受けているが、*Suv39h dn* ES細胞で脱抑制されたメジャーサテライトの転写は、変異型Suv39h1によっては不完全にしか抑えられないことがわかった。今回の研究により、ペリセントロメア領域においては、Suv39hはHP1結合非依存的にH3K9me3修飾の誘導及び確立を行うことができることが示されたが、完成された抑制的ヘテロクロマチン形成にはHP1等のヘテロクロマチン因子の動員も必要であることが強く示唆された。

今回の研究により明らかになったことは、哺乳類細胞のヘテロクロマチン形成機構を理解する上で意味のある成果であり、この分野の研究の進展に貢献した、と評価できる。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。さらに、平成25年7月31日、論文内容とそれに関連した口頭試問を行なった結果、合格と認めた。

論文内容の要旨及び審査の結果の要旨は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。特許申請、雑誌掲載等の関係により、学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。

要旨公開可能日： 年 月 日