

(続紙 1)

京都大学	博士 (生命科学)	氏名	楊 嘉銘
論文題目	The function of Prdm12 in histone methylation and cell proliferation (ヒストンメチル化と細胞増殖における Prdm12 の役割)		
(論文内容の要旨)			
<p>ヒストンの N 末端テイル部分に存在するアミノ酸残基に対する共有結合修飾は、染色体の機能に重要な役割を担っている。中でもリジン残基のメチル化修飾は、遺伝子の発現調節に密接に関わっている。そして、N 末端側に PR ドメイン、C 末端側に亜鉛フィンガーモチーフを有する Prdm ファミリータンパク質は、ヒストンリジンメチル化酵素のサブファミリーと考えられている。</p> <p>本研究では Prdm ファミリータンパク質の1つである Prdm12 に着目し、その機能解析を行った。そして申請者は、Prdm12 のヒストンメチル化酵素としての性質と Prdm12 の細胞増殖抑制効果を明らかにした。HEK293T 細胞に過剰発現させた EGFP 融合 Prdm12 を回収して活性測定を行った結果、ヒストン H3 の 9 番目のリジン (H3K9) をメチル化する活性が検出された。一方で、大腸菌に作らせた Prdm12 のリコンビナントタンパク質には、ヒストンメチル化酵素活性は見いだされなかった。また、HEK293T 細胞での過剰発現系による相互作用解析から、Prdm12 は H3K9 メチル化酵素である G9a と相互作用することを発見した。これらの結果から、Prdm12 は G9a と複合体を形成することによって、間接的に H3K9 をメチル化していると強く示唆された。さらに、Prdm12 の変異体を用いた相互作用解析により、Prdm12 の亜鉛フィンガーモチーフが G9a との相互作用に必須であることを明らかにした。</p> <p>次に、Prdm12 の生物学的役割を検証するために、in vitro 細胞分化モデル系として確立しているマウス胚性がん腫由来 P19 細胞のレチノイン酸 (RA) 処理による神経細胞への分化誘導における Prdm12 の役割を検討した。その結果、RA による P19 細胞の神経分化そのものへの影響は検出できなかったものの、Prdm12 が RA によって発現が誘導されることを見いだした。さらに、この際に shRNA によって Prdm12 をノックダウンすると細胞数が増加したことから、Prdm12 には細胞増殖を抑制する機能があることを明らかにした。Prdm12 による細胞増殖の抑制効果は、Prdm12 を安定的に発現する P19 細胞でも観察された。一方、この細胞増殖抑制効果は NIH3T3 細胞では観察されなかった。P19 細胞に Prdm12 の様々な変異体を安定的に発現させて細胞増殖を測定したところ、PR ドメインとジンクフィンガーモチーフの双方が細胞増殖の抑制に必須であることが分かった。フローサイトメトリー解析の結果、Prdm12 を過剰発現させた P19 細胞では G1 期の細胞が有意に増加していること、さらに、サイクリン依存キナーゼ阻害タンパク質である p27 の量が増加していることが示された。これらの結果から、Prdm12 の過剰発現による細胞増殖抑制機能は、p27 の発現の増加に起因する可能性が示唆された。</p> <p>本研究により、Prdm12 は G9a ヒストンメチル化酵素と複合体を形成することと、特定の細胞での細胞増殖抑制機能を有することが明らかとなった。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

ヒストンのテイル部分の共有結合修飾は、染色体の機能に重要な役割を担っている。中でもリジン残基のメチル化修飾は、遺伝子の発現調節に密接に関わっている。Prdmファミリータンパク質は、ヒストンリジンメチル化酵素のサブファミリーを構成すると考えられているが、ヒストンメチル化活性の有無や生体内での機能については不明な点が多い。

申請者はPrdmファミリータンパク質の1つであるPrdm12に着目し、その機能を調べる実験を行った。そして、Prdm12はH3K9メチル化酵素であるG9aと複合体を形成することで、間接的にH3K9のメチル化に寄与していることが申請者の研究によって強く示唆された。これは新たな発見であり、評価できる。

申請者はマウス胚性がん腫由来 P19 細胞をレチノイン酸 (RA) の処理によって分化させた際、Prdm12 の発現が上昇することを見いだした。さらに、shRNA による Prdm12 のノックダウン解析から、Prdm12 には細胞増殖を抑制する機能があることを新たに見いだした。また、Prdm12 を過剰発現させた P19 細胞では G1 期の細胞が有意に増加していること、さらに、サイクリン依存キナーゼ阻害タンパク質である p27 の量が増加していたことから、Prdm12 の過剰発現による細胞増殖抑制機能は、p27 の発現の増加に起因する可能性が示唆された。また、このような機能は、NIH3T3 細胞では観察されず、胚性幹細胞では認められるという。Prdm12 の細胞増殖抑制機能は、幹細胞系に特異的な機能であることが示唆された。生物学的役割がよく分かっていなかった Prdm12 の新たな機能を申請者が具体的に見いだしたことは評価できる。

本研究によって、Prdm12はG9aヒストンメチル化酵素と複合体を形成することでH3K9メチル化に寄与すること、さらに細胞周期を調節することによって、細胞増殖を抑制する機能を有することが明らかになった。これまで機能に不明な点が多かったPrdmファミリータンパク質の新たな機能を明らかにしたことで、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9月4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