

氏 名	うえ だ じゅん 上 田 潤
学位(専攻分野)	博 士 (生命科学)
学 位 記 番 号	生 博 第 84 号
学位授与の日付	平 成 18 年 9 月 25 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	新規亜鉛フィンガー蛋白質 Wiz の G9a/GLP 複合体での役割

論文調査委員	(主 査) 教 授 眞 貝 洋 一	教 授 下 遠 野 邦 忠	教 授 藤 田 尚 志
--------	----------------------	---------------	-------------

論 文 内 容 の 要 旨

遺伝子の転写制御には様々なヒストン修飾酵素や転写抑制因子が関わっており、これらの蛋白質は複合体を形成することによって協同的に働いている。

ヒストン修飾酵素として Tachibana らが同定した G9a は、ヒストン H3 の Lys9 をメチル化することによって転写抑制に機能している。その後の解析によって、G9a が *in vivo* で正常に機能するためには GLP という G9a と同じ酵素活性を持った、非常によく似た分子とヘテロ二量体を形成する必要があることが明らかとなった。また G9a, GLP は *in vitro* でそれぞれホモ二量体を形成できるにも関わらず、多くの細胞内では G9a, GLP はほとんど G9a/GLP ヘテロ二量体として存在することが判明した。

G9a/GLP が何故、またどのようにヘテロ二量体として優先的に *in vivo* では存在しているのか、さらには G9a/GLP がいかにして転写抑制を果たしているのかを明らかにするために、申請者は G9a 複合体をマウス ES 細胞より精製し、その構成因子を解析することでこれらの疑問に取り組んだ。本研究では、質量分析の解析により同定された新規の G9a 複合体構成因子の一つ、6 つの亜鉛フィンガーを有する Wiz という機能未知の分子に焦点を絞り、Wiz の G9a/GLP 複合体における役割について解析を行った。

これまでに G9a と結合する分子はいくつか報告されているが、興味深いことに Wiz は G9a, GLP 両方共に結合することが明らかとなった。さらに G9a, GLP 欠損細胞を用いた解析から、Wiz は安定な複合体形成に G9a/GLP 両方を必要とすることが判明した。また Wiz をノックダウンすると G9a 蛋白質の量が低下したことから、Wiz は G9a を G9a/GLP/Wiz 複合体の形を採ることで安定化していることが考えられた。最後に、Wiz が転写抑制因子である CtBP と結合し、複合体を形成することが明らかとなった。

本研究から、これまで機能未知であった Wiz が G9a/GLP のヘテロ二量体形成ならびにその優先的存在に寄与する因子として働いていること、さらには G9a/GLP と CtBP とを繋ぐアダプター分子としても機能していることが示唆された。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

ヒストンの様々な化学修飾がクロマチンの構造・機能制御に重要な役割を持つことが近年示されている。特に、ヒストンリジン残基のメチル化修飾は、エネルギー的に安定な修飾であることから、細胞の長期記憶媒体として中心的役割を果たしていることが示唆されている。その中で、ヒストン H3 の 9 番目のリジン (H3K9) のメチル化修飾は転写抑制やヘテロクロマチン形成のためのヒストンコードとして使われている。H3K9 のメチル化酵素には、ヘテロクロマチンを主な標的とする Suv39h ファミリーとユウクロマチンをその標的とする G9a, GLP が主に存在しているが、それらの分子がどのようなメカニズムでそれぞれの標的特異性を獲得しているのか、さらにはどのようにしてエピジェネティックな遺伝子発現制御を行っているのか、詳細はまだ明らかにされていない。そこで、申請者は G9a/GLP 複合体をモデル系として、これらのまだ

答えられていない問題にチャレンジする目的で、G9a の複合体解析を行い、その構成成分として新たに Wiz を同定した。Wiz の生化学的解析を行った結果、Wiz は G9a だけでなく GLP とも物理的相互作用を示すこと、更なる解析の結果、Wiz は G9a, GLP の SET ドメインを介したホモ及びヘテロ複合体と相互作用をすること、G9a, GLP の SET ドメインと Wiz の 6 番目の亜鉛フィンガードメインがその会合ドメインとして機能していることが明らかとなった。Wiz の RNAi ノックダウン実験からは、Wiz が G9a/ GLP と複合体を形成することで G9a の蛋白質安定化に寄与することが示された。Wiz はさらに、転写抑制因子 CtBP の結合類似配列を 2 箇所持つことが明らかとなり、解析の結果、確かに CtBP1, 2 の一部が Wiz のこの配列を介して、G9a/ GLP と複合体 (G9a/ GLP/ Wiz/ CtBP 複合体) を形成することが示された。以上、Wiz の生化学的な解析から、G9a/ GLP の転写抑制メカニズムに関する新たな制御機構の実体が明らかとなった。

本論文で述べられた研究成果は、ヒストンメチル化修飾によるエピジェネティックな遺伝子発現制御メカニズムを理解する上でも重要な知見であり、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18年7月10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。