



Title	ヒトHP1サブタイプの細胞内局在の細胞周期変動と局在ドメインの同定
Author(s)	早川, 智博
Citation	大阪大学, 2003, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/44078
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏名	早川 智博
博士の専攻分野の名称	博士(理学)
学位記番号	第 17540 号
学位授与年月日	平成15年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 理学研究科生物科学専攻
学位論文名	ヒトHP1サブタイプの細胞内局在の細胞周期変動と局在ドメインの同定
論文審査委員	(主査) 教授 平岡 泰 (副査) 教授 田嶋 正二 教授 米田 悅啓

論文内容の要旨

ヒトにおいて HP1 (Heterochromatin Protein 1) は α 、 β 、 γ 3種類のホモログが存在し、メチル化ヒストン H3 を始め複製、転写制御、核膜構成など異なる機能に関与するタンパクとの結合が数多く報告されている。最初に HP1 が同定されたキイロショウジョウバエでは多糸染色体のセントロメア、テロメアを含むヘテロクロマチン領域に局在し、変異体解析からジーンサイレンシングや染色体分離に機能していることが示唆されている。細胞核は遺伝子が様々な機能するための場を提供するが、今まで報告されているような HP1 の多面的な機能がこのような場を作ることでどのように関与しているのか興味ある問題である。今までヒトホモログ 3種の間に明確な機能的差異は見いだされていない。本論文において私はヒト HP1 ホモログの違いに焦点を当てオワンクラゲ由来の蛍光タンパク質 Green Fluorescent Protein のアミノ酸置換体である YFP (Yellow Fluorescent Protein) を融合したヒト HP1 ホモログの生細胞及び固定細胞における挙動を観察した。その結果、間期において全ての HP1 サブタイプはセントロメアへテロクロマチンと PML nuclear body に局在した。しかし、その傾向はサブタイプ間で違いが見られた。間期において HP1 β が最もよく局在するのがセントロメアへテロクロマチンであるのに対し、HP1 α と HP1 γ はセントロメアへテロクロマチンよりもむしろ PML nuclear body に最もよく局在した。一方分裂期においては、興味深いことに分裂前期の後半に HP1 β のセントロメアへテロクロマチン局在は HP1 α に取って代わられ、分裂中期の間 HP1 α のみがセントロメアに局在した。この結果を踏まえ、HP1 サブタイプを断片化しそれぞれの断片の細胞内局在から HP1 サブタイプの細胞内局在を規定している領域を検討した。その結果、HP1 α の C 末端領域 (アミノ酸残基 101-180) が分裂中期セントロメアに、また HP1 β の N 末端領域 (アミノ酸残基 1-76) が間期セントロメア領域に局在するのにそれぞれ必要なドメインであることを示した。これら HP1 α の断片 101-180 断片と HP1 β の断片 1-76 を同時に発現させた HeLa 細胞で生細胞観察を行った結果、それぞれの全長での挙動と同様に分裂前期の後半に HP1 β 断片はセントロメア領域から解離し、HP1 α 断片がセントロメア領域に集積した。これらの結果から HP1 α と HP1 β の異なる領域が分裂期と間期の HP1 サブタイプ間のセントロメア局在の違いを生じる原因となっていることが示唆された。

論文審査の結果の要旨

本論文は、ヒトのヘテロクロマチンタンパク質 HP1 (Heterochromatin Protein 1) の 3 種類のサブタイプ α 、 β 、 γ の機能の違いを明らかにすることを目的として、HP1 サブタイプの細胞内局在とその細胞周期変動を解析し、さらに局在に必要なタンパク質領域を同定した。HP1 は、複製や転写、核膜構成など異なる機能に関わる多くのタンパク質との結合が報告されている。このような相互作用に必要なタンパク質領域と局在に必要なタンパク質領域との連関を解析することによってミタンパク質の機能を明らかにしようと試みた。申請者は、細胞内局在とその細胞周期変動の観察から、サブタイプ間での違いに気付き、そのような違いを生じる理由に着目して、局在に必要なタンパク質領域の同定を行った。その結果、セントロメアに結合するために必要な HP1 のタンパク質領域が分裂間期と分裂中期で異なるという新しい知見に到達した。この結論を確証するにあたり、生化学、分子遺伝学、蛍光顕微鏡など様々な手法を併用して実験をデザインし、解析を進めた。観察に基づいて問題を設定し、実験によって解決するための科学のプロセスを習得したと言える。よって、博士（理学）の学位論文に値するものと認める。