

| | |
|--------------|---|
| Title | Isoform-specific Intermolecular Disulfide Bond Formation of Heterochromatin Protein 1 (HP1) |
| Author(s) | 肥後, 修一郎 |
| Citation | 大阪大学, 2011, 博士論文 |
| Version Type | |
| URL | https://hdl.handle.net/11094/58114 |
| 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、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。 |

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

【59】

| | |
|---------------|---|
| 氏名 | 肥 後 修 一 朗 |
| 博士の専攻分野の名称 | 博 士 (医 学) |
| 学 位 記 番 号 | 第 2 4 3 8 1 号 |
| 学 位 授 与 年 月 日 | 平 成 23 年 3 月 25 日 |
| 学 位 授 与 の 要 件 | 学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当 医学系研究科内科系臨床医学専攻 |
| 学 位 論 文 名 | Isoform-specific Intermolecular Disulfide Bond Formation of Heterochromatin Protein 1 (HP1) (ヘテロクロマチン蛋白 1 (HP1)のアイソフォーム特異的分子間ジスルフィド結合) |
| 論 文 審 査 委 員 | (主査) 教 授 小 室 一 成 (副査) 教 授 菊 池 章 教 授 岩 井 一 宏 |

論 文 内 容 の 要 旨

(目 的)

ヘテロクロマチン蛋白 1 (HP1)は、染色体関連蛋白質のひとつで、他蛋白質とともに転写抑制複合体を形成し、遺伝子転写制御において様々な役割を果たしている。HP1には α 、 β 、 γ の3つのアイソフォームが存在するが、これらは互いに類似した構造をもつにも関わらず、核内局在が異なり、細胞内において多様な機能を担っている。近年HP1の制御メカニズムのひとつとして翻訳後修飾の関与が示唆されており、その解明はHP1の機能を明らかにする上での重要なアプローチと考えられる。

(方法ならびに成績)

我々は、逆相カラムクロマトグラフィーを用いた蛋白質精製過程において、HP1 α が疎水性の異なる2つのfractionに分離されることを偶然に見出した。そこで、何らかの翻訳後修飾がfraction間の生化学的差異に寄与しているという仮説を立て、その修飾の同定を試みた。アミノ酸変異体解析、非還元SDS-PAGE、非還元下質量分析により、分離されたfractionは、新規翻訳後修飾である酸化修飾によりHP1 α がジスルフィドホモダイマーを形成したものであることが分かった。HP1の3つのisoformは互いに類似したドメイン構造をもつが、酸化感受性システイン残基はHP1 α の133番目のシステイン、HP1 γ の177番目のシステイン(C177)のみで、HP1 β には存在しなかった。また、3つのisoformのうち、HP1 γ だけが、*in vitro*、*in vivo*双方において、酸化刺激下において速やかに、かつ可逆的にジスルフィドダイマーを形成することが分かった。そこで、HP1 γ の酸化修飾の機能を明らかにするため、ヒト臍帯静脈内皮細胞 (HUVEC)を用いて結合蛋白のスクリーニングを行った。その結果、HP1 γ は酸化刺激下においてジスルフィドダイマーを形成したときのみ、転写共抑制因子であるTIF1 β と強固に結合することが明らかとなった。免疫染色、核内蛋白の生化学的分

画により酸化刺激下での動態を解析したところ、HP1 γ はHUVEC核内のユークロマチン領域に存在し、ジスルフィドダイマー形成とともに、クロマチン上にTIF1 β を補足することが分かった。内在性HP1 γ をノックダウンし、WTまたはC177S変異HP1 γ 蛋白を導入したstable HEK293T細胞を用いて、TIF1 β の転写抑制機能をレポーターアッセイにより解析したところ、HP1 γ のダイマー化はTIF1 β の転写抑制機能を解除することが明らかとなった。

〔 総 括 〕

HP1 γ は、酸化刺激下においてTIF1 β と強固に結合しその機能を阻害することで、核内レドックス状態と転写制御をつなぐセンサー蛋白として機能することが明らかとなった。HP1のアイソフォーム特異的な酸化応答性は、HP1の多様な機能に寄与し、酸化環境下における遺伝子転写制御に関わり得ることが示唆された。

論文審査の結果の要旨

染色体関連蛋白質であるHP1には α 、 β 、 γ の3つのアイソフォームが存在するが、これらは互いに類似した構造をもつ一方多様な機能を担い、その制御メカニズムのひとつとして翻訳後修飾が示唆されている。著者らは、逆相HPLC、アミノ酸変異体解析、質量分析により、新規翻訳後修飾として、HP1が特異的システイン (C) 残基を介して分子間ジスルフィド結合を形成することを見出した。HP1 α のC133、HP1 γ のC177が特異的修飾残基として同定され、HP1 β はジスルフィド結合を形成しなかった。*in vitro*、*in vivo*双方において、HP1 γ は容易に酸化されジスルフィドダイマーを形成するのに対し、HP1 α のダイマーは酸化状態ではほとんど増加せず、その構造上の酸化感受性の差異が示唆された。血管内皮細胞を用いたスクリーニングにより、酸化状態にて分子間ダイマーを形成したHP1 γ は転写共抑制因子であるTIF1 β と強固に結合することが分かった。生化学的解析、転写レポーター解析により、酸化状態下で、HP1 γ はTIF1 β をクロマチン上に捕捉し、その転写抑制機能を解除することが分かった。これらのアイソフォーム特異的な酸化応答性は、HP1の多様な機能に寄与し、酸化環境下における遺伝子転写制御に関わり得ることが示唆された。以上より、本論文を学位に値するものと認める。