

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	SUV420H2のヘテロクロマチン局在化メカニズム
Title(English)	Mechanism of SUV420H2 heterochromation localization
著者(和文)	中尾勝
Author(English)	Masaru Nakao
出典(和文)	学位:博士(理学), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第12657号, 授与年月日:2024年3月26日, 学位の種別:課程博士, 審査員:木村 宏,徳永 万喜洋,田口 英樹,野澤 佳世,藤田 尚信
Citation(English)	Degree:Doctor (Science), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第12657号, Conferred date:2024/3/26, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Category(English)	Doctoral Thesis
種別(和文)	審査の要旨
Type(English)	Exam Summary

(博士課程)

論文審査の要旨及び審査員

報告番号	甲第	号	学位申請者氏名	中尾勝		
論文審査 審査員			氏 名	職 名		
			氏 名	職 名	氏 名	職 名
	主査		木村 宏	教授	藤田 尚信	准教授
	審査員			徳永 万喜洋	教授	
				田口 英樹	教授	
				野澤 佳世	准教授	

論文審査の要旨（2000 字程度）

本論文は「SUV420H2 のヘテロクロマチン局在化メカニズム (Mechanism of SUV420H2 heterochromatin localization)」と題し、以下の 5 章より構成されている。

第 1 章「研究背景と研究目的」では、背景となるクロマチン高次構造とヒストン修飾、ヘテロクロマチンについて概説し、ヘテロクロマチンタンパク質 1 (HP1) とその結合タンパク質、および、HP1 の局在と動態の制御機構に関する知見を述べている。さらに、本論文の主要な研究対象であるヒストン H4 Lys20 のトリメチル化酵素である SUV420H2 に関して詳細に記述し、そのヘテロクロマチン標的モジュール (HTM) が HP1 に結合するが、HP1 よりも SUV420H2 がヘテロクロマチン上に安定に局在化する機構が不明であることを述べている。これらの背景から、SUV420H2 と HP1 の結合様式を調べることで、SUV420H2 の安定的なヘテロクロマチン局在化のメカニズムを明らかにし、さらに SUV420H2 による HP1 のヘテロクロマチン結合安定化への寄与を明らかにすることが目的であると述べている。

第 2 章「材料と方法」では、本研究で用いられた実験の材料と方法の詳細を述べている。

第 3 章「SUV420H2 HTM と HP1 の結合様式と双方向の局在制御」では、クロモセーターと呼ばれるペリセントロメアヘテロクロマチンに SUV420H2 HTM が局在化する機構について解析した結果を述べている。HTM の N 末端側 (HTM-N) と C 末端側 (HTM-C) は、それぞれクロモセーターに局在化することが示されており、HTM-N には 2 つの HP1 結合モチーフが、HTM-C には 1 つの HP1 結合モチーフが存在し、アミノ酸置換変異体解析によりそれらがクロモセーターへの局在化に必要なことが述べられている。HTM-N と HTM-C はそれぞれ HP1 と直接結合することが免疫沈降により示されており、それらのクロモセーターへの局在は HP1 を介するものであるとの考えが述べられている。また、HTM-N の 2 つのモチーフは協調的に HP1 との結合に作用し、この協調的な作用には進化的に保存されたヒスチジンとシステインが働いて適切な立体配置を取ることが重要であることが示唆されている。次に、HTM と各種変異体の発現が内在性 HP1 の局在および動態に与える影響を解析している。HP1 のヘテロクロマチンへの集積は、HTM および HTM-N の発現により促進されるが、反対に HTM-C の発現により減弱されることを述べている。また、HTM の持つ 3 つの HP1 結合モチーフのうち 2 番目に点変異を導入した HTM V374D の発現は HP1 の局在および動態に影響を与えないことも示されている。これらの結果は、HP1 のヘテロクロマチンへの結合が HTM および HTM-N の発現によって安定化され、HTM-C の発現によって不安定化されることを示唆している。

第 4 章「ヘテロクロマチン可視化プローブとしての応用可能性の検証」では、HP1 の動態に影響を与えない HTM V374D を用いることで、HP1 が結合するヘテロクロマチンの生細胞観察が可能になることが述べられている。緑色蛍光タンパク質 (sfGFP) と融合した HP1 を発現させるとヘテロクロマチン以外の場所への局在も検出されるのに対して、HTM V374D-sfGFP はヘテロクロマチン上の HP1 に結合するため、ヘテロクロマチンの観察に適していると述べられている。この HTM V374D-sfGFP プローブを用いて、DNA 複製時のヘテロクロマチン動態が解析されている。

第 5 章「考察」では、前章までの結果をもとに、SUV420H2 のヘテロクロマチン局在化機構と HP1 動態制御機構について考察されている。細胞内での HP1 のヘテロクロマチン結合は、協調的に働く複数の HP1 結合モチーフを持つタンパク質による安定化と単一の HP1 結合モチーフを持つタンパク質による不安定化のバランスにより制御されているとの考えが述べられている。また、HP1 結合モチーフを持つタンパク質の過剰発現は HP1 の細胞内動態に影響を与えうるが、協調的に働かない 2 つの結合モチーフを持つ変異体 (HTM V374D) はほとんど影響を与えなかったことから、この変異体は、HP1 が結合するヘテロクロマチンの細胞内動態の追跡に応用可能であると考えが述べられている。

以上を要するに，本論文はヒストン H4 メチル化酵素である SUV420H2 のヘテロクロマチン局在化機構とヘテロクロマチンタンパク質 HP1 の動態制御機構を明らかにし，さらに生細胞ヘテロクロマチン可視化プローブを開発したものであり，理学上貢献するところが大きい。よって，本論文は博士（理学）の学位論文として十分な価値があるものと認められる。

注意：「論文審査の要旨及び審査員」は，東工大リサーチリポジトリ(T2R2)にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。