

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 5月31日現在

機関番号：82401

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2009～2011

課題番号：21657046

研究課題名（和文） 核内チューブリンの機能とポリコームによる制御の解析

研究課題名（英文） Study about Tubulin protein's novel function in interphase nuclei and regulation by polycomb proteins.

研究代表者

藤村 雄一 (FUJIMURA YU-ICHI)

独立行政法人理化学研究所・免疫器官形成研究グループ・研究員

研究者番号：60392099

研究成果の概要（和文）：

核ラミナ (NL) は主に Lamin に構成されるタンパク質重合体であり、高等生物の核の内壁を裏打ちする。NL と核内分子の物理的結合は転写活性やクロマチン制御に関連し、NL に結合する遺伝子座の多くは転写が抑制されている。NL はまた ヒストン脱アセチル化酵素 (HDAC) をはじめとする転写制御因子、クロマチン制御因子と結合する。一般に、ヒストンのアセチル化は NL 近傍では抑制されており、また NL に結合する遺伝子の発現制御に重要であることは知られており、上記の核内分子が NL と結合することは核辺縁部を転写抑制に適した微小環境たらしめていると考えられている。

我々は、細胞周期間期の NL にチューブリンタンパク質が恒常的に結合しており、これが遺伝子ならびに HDAC と結合することで、NL-遺伝子間、NL-HDAC の結合を仲介することを示した。さらに チューブリンと遺伝子の結合にはポリコームとタンパク質が必要であることも明らかとした。すなわち、我々の発見はチューブリンおよびポリコームが NL と核内分子の会合に必須であり、それを通じて核辺縁部の特徴的なクロマチン状態を制御することを示すものである。

研究成果の概要（英文）：

In metazoan, the inner surface of nuclear envelope is lined by nuclear lamina (NL), primarily consist of Lamins. Physical interaction of NL and intranuclear molecules engages in regulation of chromosome statement and of transcriptional activity. Large extent of the genes associating to NL is transcriptionally repressed. NL also associates to variety of chromatin modifying factors including HDACs. Given that histone acetylation at nuclear periphery in low level and is close involved in transcriptional activity of genes interacting to NL, these molecular associations make proximal space of NL a microdomain which promotes deacetylation of histone, and thereby transcriptional repression.

However, machineries which link NL and its binding factors in living cells are yet poorly understood. Here we show Tubulin proteins persistently associate to NL, and are indispensable for association of NL-chromatin, and of NL-HDACs. Loss of Tubulin from NL results in the disengagement of chromatin and HDACs from NL, and upregulation of histone acetylation at nuclear periphery. Moreover, we found association of Tubulin and chromatin requires polycomb group (PcG) protein Ring1b, therefore Ring1b mediates binding of chromatin and NL. Our data show novel function of Tubulin proteins and PcGs for the molecular assembly determinative for chromosome statement at nuclear periphery.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,100,000	0	1,100,000
2010年度	1,000,000	0	1,000,000
2011年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	3,100,000	300,000	3,400,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：生物科学・分子生物学

キーワード：

核ラミナ、クロマチン、チューブリン、ヒストンアセチル化

1. 研究開始当初の背景

核ラミナ (NL) は主に Lamin に構成されるタンパク質重合体であり、高等生物の核の内壁を裏打ちする。NL と核内分子の物理的結合は転写活性やクロマチン制御に関連し、NL に結合する遺伝子座の多くは転写が抑制されている。NL はまた ヒストン脱アセチル化酵素 (HDAC) をはじめとする転写制御因子、クロマチン制御因子と結合する。一般に、ヒストンのアセチル化は NL 近傍では抑制されており、また NL に結合する遺伝子の発現制御に重要であることは知られており、上記の核内分子が NL と結合することは核辺縁部を転写抑制に適した微小環境たらしめていると考えられている。

2. 研究の目的

核ラミナと核内分子の物理的結合はその生物学的重要性を強く示唆されているが、その基盤となる分子メカニズムについては限られた知見が存在するのみであり、また実際に生体内においてそれらモデルが機能しているかについては検証されていないものが多い。ラミナと核内分子を仲介する分子を検索し、またその生理的条件下での機能を検証することが本研究の目的である。

3. 研究の方法

核ラミナの構成タンパク質を精製、同定を行った。同定したタンパク質 (チューブリン) が実際にラミナに結合する事を検証した上で、これをラミナから脱離させ、それが核内分子およびクロマチン状態に与える影響を解析した。

4. 研究成果

第一に、チューブリンタンパク質が核ラミナに

結合することを明らかとした。

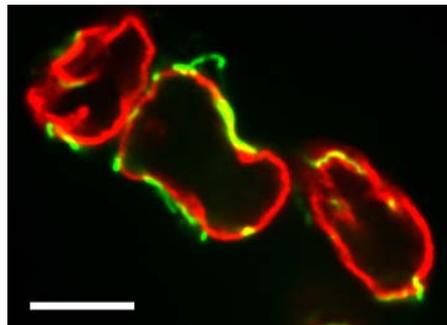


図1. 界面活性剤により細胞質成分を除去したマウス ES 細胞を用いた免疫蛍光染色像。

赤・Lamin-B、緑・ β -Tubulin。

また細胞をチューブリンの脱重合剤で処理することで、ラミナとチューブリンの結合を阻害することができた。この時、ラミナと遺伝子の結合が失われ、これら遺伝子の核内局在はラミナ近傍から核の中央部への移動が観察された。

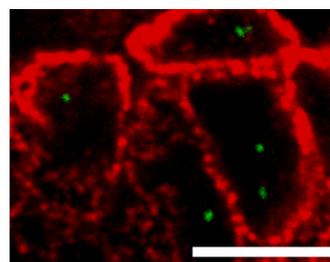
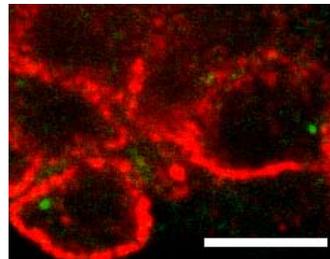


図 2. Immuno-FISH により、ラミナおよびチュブリン結合遺伝子座の一つを可視化した像。正常な細胞（上）ではラミナ近傍に遺伝子座が観察される。薬剤処理によりラミナからチュブリンを除去すると遺伝子座は核中央部へ移動した（下）。

さらにラミナからチュブリンを除去した細胞では、ラミナと HDAC の結合も阻害された。

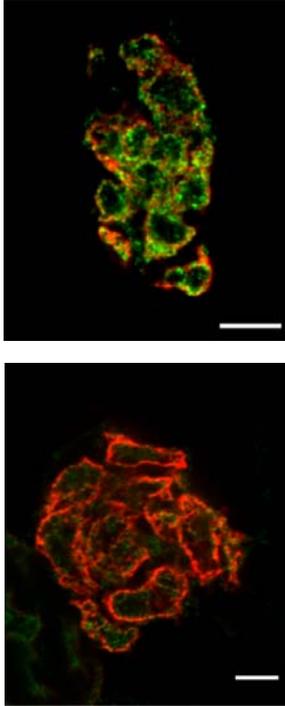


図 3. 細胞分画により核質およびクロマチンをラミナと分離し、ラミナに結合する HDAC を蛍光免疫染色により可視化した。正常な細胞（上）ではラミナ近傍に HDAC が局在する。薬剤処理によりラミナ近傍の HDAC は失われる（下）。

赤・Lamin-B、緑・HDAC1

結果としてチュブリンをラミナから除去した細胞では核辺縁部でのヒストンアセチル化の亢進が観察された。

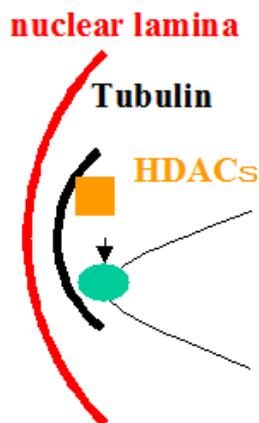


図 4. 概念図。ラミナ近傍に存在するチュブリンは遺伝子座および HDAC がラミナに結合するための足場として機能し、核辺縁部の遺伝子座のヒストンアセチル化を低レベルに維持する上で必須である。

さらに、チュブリンはポリコームタンパク質とも結合し、ポリコームを欠損させた細胞ではチュブリンと遺伝子の結合、そして結果的にラミナと遺伝子の結合が失われることも明らかとなった。

5. 主な発表論文等

（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔雑誌論文〕（計 0 件）

〔学会発表〕（計 0 件）

〔図書〕（計 0 件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計 0 件）

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

出願年月日：

国内外の別：

○取得状況（計 0 件）

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年月日：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

藤村 雄一 (FUJIMURA YU-ICHI)
独立行政法人理化学研究所・免疫器官形成研
究グループ・研究員
研究者番号：60392099

(2) 研究分担者
なし

(3) 連携研究者
なし