

令和 5 年 6 月 16 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2022

課題番号：21K15067

研究課題名（和文）ほ乳類におけるHP1依存的なヘテロクロマチン形成機構の解明

研究課題名（英文）Mechanism of HP1-mediated heterochromatin formation in mammals

研究代表者

前田 亮（Maeda, Ryo）

大阪大学・大学院生命機能研究科・特任助教（常勤）

研究者番号：90814575

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,600,000円

研究成果の概要（和文）：クロマチンを恒常的に凝集させる構成的ヘテロクロマチン（以下、ヘテロクロマチン）は、細胞の独自性を規定するための遺伝子発現制御に不可欠である。しかし、ヘテロクロマチンが細胞内でどのように形成されるか、その分子メカニズムは不明な点が多い。ヘテロクロマチンはヒストン修飾H3K9メチル化にHP1が結合することで形成される。そこで、HP1を欠損させたマウスES細胞を作出し、メチル化酵素に対するHP1の役割を解析した結果、HP1がH3K9メチル化酵素や脱メチル化酵素のタンパク質安定化を促進することでヘテロクロマチンの形成に関与していることが明らかとなった。これらの研究成果はEMBO Rep誌に掲載された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究成果により、HP1とH3K9メチル化酵素・脱メチル化酵素の結合が、これらの酵素の安定化に必須であることが明らかとなった。早期老化症やがんなどのさまざまな疾患でH3K9メチル化の異常は観察される。これらの酵素とHP1の結合領域に入り結合を阻害、あるいは促進する薬物を開発することで、H3K9メチル化の異常が原因で引き起こされる疾患に対する治療法を提案できる可能性がある。

研究成果の概要（英文）：Constitutive heterochromatin (heterochromatin) is required for the regulation of gene expression to define the uniqueness of cells. However, the molecular mechanism underlying heterochromatin formation remains unclear. Heterochromatin is formed by the binding of HP1 to histone modification H3K9 methylation. Thus, we generated mouse ES cells lacking HP1 and analyzed the role of HP1 on methyltransferases, and found that HP1 is involved in the formation of heterochromatin by promoting protein stability of H3K9 methyltransferases and demethylases. These findings were published in EMBO Rep.

研究分野：分子生物学

キーワード：ヘテロクロマチン H3K9メチル化

1. 研究開始当初の背景

ヒストン H3 の 9 番目のリジンのメチル化 (H3K9 メチル化) は染色体が凝集し遺伝子発現が抑制されたゲノム領域 (ヘテロクロマチン) にみられる典型的なエピジェネティック修飾である。HP1 は H3K9 メチル化に結合するタンパク質として同定された。真核生物では H3K9 メチル化と HP1 が必ずセットで保存されていることから、HP1 が H3K9 メチル化に結合することで、ヘテロクロマチンの形成を促すと考えられてきた。しかし、HP1 の機能やヘテロクロマチンの形成機構の全容は未だ明らかになっておらず、その詳細な分子メカニズムの解明は、クロマチン研究分野における大きな研究課題となっていた。ほ乳類において、HP1 は三種類の類似した遺伝子によってコードされている。そこで研究代表者は、三種類の HP1 をすべて欠損させた細胞を樹立し、解析をおこなった。

2. 研究の目的

H3K9 メチル化結合タンパク質である HP1 に着目し、ヘテロクロマチンの形成機構を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

HP1 を三種類すべて欠損可能なマウス ES 細胞を用いて、HP1 の存在下、非存在下における細胞の状態や、H3K9 メチル化や H3K9 メチル化酵素の量を生化学的手法により解析した。

4. 研究成果

HP1 に結合できない H3K9 メチル化酵素タンパク質は不安定だという先行研究から、HP1 は H3K9 メチル化酵素タンパク質の安定性の維持に関わるのではないかと仮説を立てた。マウス ES 細胞を用いて、CRISPR/Cas9 システムにより三種類の HP1 全てを条件的に欠損させたところ、H3K9 メチル化酵素がタンパク質レベルで大幅に減少することが明らかとなった。HP1 完全欠損細胞の核内を電子顕微鏡で観察した結果、染色体の凝集領域と弛緩領域の区別がつかないことが判明した (図 1)。これらの結果から、HP1 は H3K9 メチル化酵素のタンパク質の量を維持し、正しい染色体構造を維持するために必須であることが考えられた。

つぎに、HP1 がどのように H3K9 メチル化酵素を安定化するのかを調べるために、機能が一部欠損した HP1 変異体を HP1 欠損細胞に導入し、レスキュー実験をおこなった。その結果、H3K9 メチル化酵素には結合できるが H3K9 メチル化に結合できない HP1 変異体は H3K9 メチル化酵素を安定化できなかった。このことから、HP1 がこれらの酵素を安定化するためには、HP1 と酵素の結合だけでなく、HP1 が染色体に結合することも必要だとわかった。また、HP1 は H3K9 脱メチル化酵素も同様に安定化することも明らかにした。

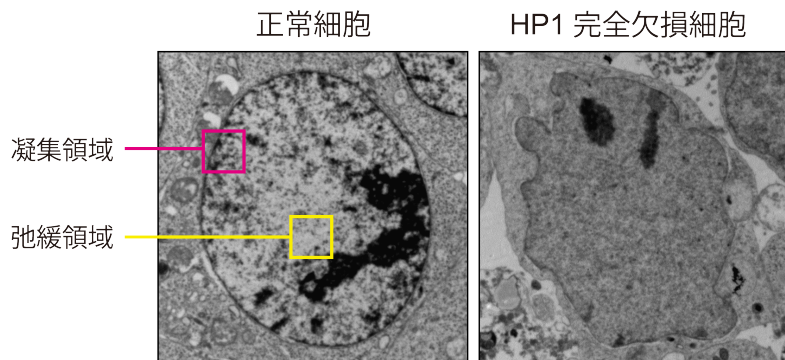


図 1. 電子顕微鏡による正常細胞と HP1 完全欠損細胞の核の比較
 正常細胞 (左) の核では黒く染まった染色体の凝集領域 (ピンク色部分) と、白く染まった弛緩領域 (黄色部分) が明確に区別できる。一方で、HP1 完全欠損細胞 (右) の核は画像の濃淡が消失しており、染色体の凝集領域と弛緩領域の区別がつかない。

以上の結果から、H3K9 メチル化酵素・脱メチル化酵素を染色体につなぎ安定化するハブの役割を持ち、ヘテロクロマチン形成に不可欠なタンパク質であることが考えられた (図 2)。

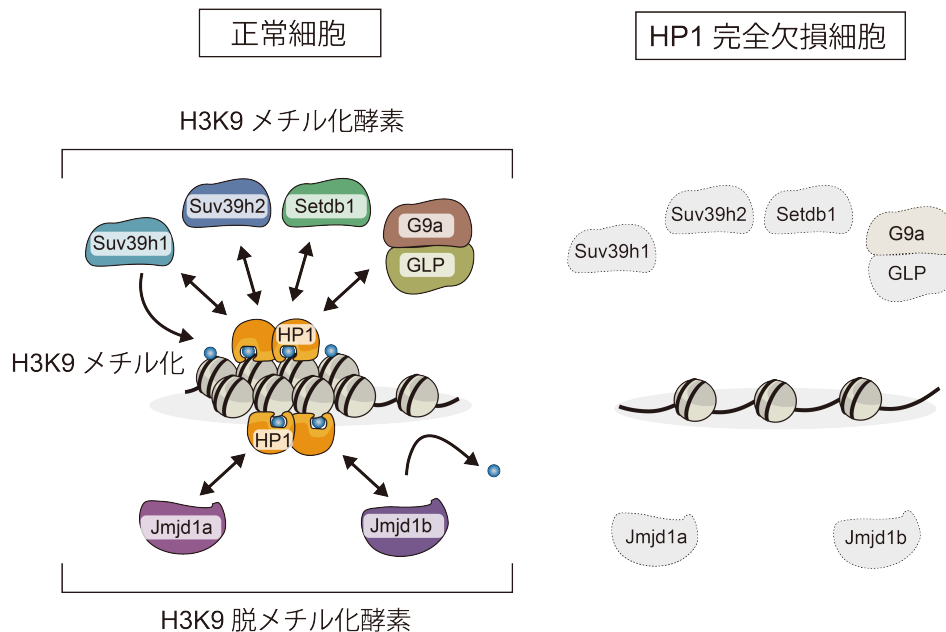


図 2. 本研究で明らかにした HP1 の機能
 HP1 は H3K9 メチル化酵素・脱メチル化酵素と染色体上で複合体をつくることでこれらの酵素を安定化する (左)。HP1 が欠損すると、これらの酵素は分解され、染色体構造の崩壊が引き起こされる (右)。

参考文献

Maeda R and Tachibana M. HP1 maintains protein stability of H3K9 methyltransferases and demethylases. *EMBO Rep* e53581. 2022 .

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Maeda Ryo, Tachibana Makoto	4. 巻 23
2. 論文標題 HP1 maintains protein stability of H3K9 methyltransferases and demethylases	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 EMBO reports	6. 最初と最後の頁 e53581
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.15252/embr.202153581	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 前田亮
2. 発表標題 H3K9 methylation-mediated gene repression in mESCs
3. 学会等名 遺伝研研究会「有性生殖における染色体・クロマチン・核動態に関する若手研究者の会」（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 前田亮
2. 発表標題 H3K9me2/3 represses the expression of 2-cell-stage-specific genes in mESCs
3. 学会等名 第95回日本生化学会大会（招待講演）
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------