

氏名	鍛谷 香織		
学位の種類	博士（医学）		
学位記番号	博乙第 2837 号		
学位授与年月	平成 29年 5月 31日		
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当		
審査研究科	人間総合科学研究科		
学位論文題目	TAF-I のサブタイプ依存的なヒストン H1 シャペロン 活性制御機構		
主査	筑波大学教授	医学博士	加藤 光保
副査	筑波大学准教授	博士（医学）	福田 綾
副査	筑波大学講師	博士（医学）	中尾 砂理
副査	筑波大学助教	博士（薬学）	船越 祐司

## 論文の内容の要旨

鍛谷香織氏の博士學位論文は、ヒストン H1 シャペロン TAF-I に N 末端領域のみ異なる $\alpha$ 及び $\beta$ のサブタイプが存在し、TAF-I $\alpha$ は、TAF-I $\beta$ と比較してヒストンH1シャペロン活性が弱いことに注目し、TAF-I $\alpha$  N 末端領域の機能を検討したものである。その要旨は以下のとおりである。

### (目的)

クロマチンの構成因子の一つであるリンカーヒストン H1 は、転写をはじめとする様々な核内反応の制御に重要である。しかし、ヒストン H1 を介したクロマチン構造制御機構の詳細はいまだ不明な点が多い。細胞内でヒストン H1 のクロマチン上での脱着を制御する因子の一つとして、ヒストン H1 シャペロン TAF-I が知られている。TAF-I には、N 末端領域のみ異なる $\alpha$ 及び $\beta$ のサブタイプが存在し、ホモ及びヘテロ 2 量体を形成する。TAF-I $\alpha$ は、ヒストン H1 シャペロン活性に必須である 2 量体形成能、及び C 末端酸性アミノ酸領域のどちらも保持しているにも関わらず、TAF-I $\beta$ と比較してヒストンH1シャペロン活性が弱い。TAF-I サブタイプの発現パターンは細胞種で異なる。各サブタイプの発現比率が変化することで、TAF-I のヒストン H1 シャペロン活性が制御されている可能性が示唆されている。そこで著者は、本研究で、TAF-I のサブタイプ依存的なヒストン H1 シャペロン活性の制御機構を明らかにすることを目的としている。

### (対象と方法)

著者は、試験管内におけるヒストン H1 の DNA からの解離活性を指標に、TAF-I の N 末端領域の変異体を用いて TAF-I のサブタイプ特異的なヒストン H1 シャペロン活性の制御に関与するアミノ酸領域を解析している。また、その結果より、TAF-I $\alpha$ 特異的な分子内相互作用によってヒストン H1 シャペロン活性が抑制されるという仮説をたて、ゲルシフト法、クロスリンク法、FlAsH ラベル法を用いて分子内相互作用による活性制御機構を解析している。

### (結果)

TAF-I の N 末端欠損変異体 (TAF-I $\Delta$ N1) は TAF-I $\beta$  と同等の活性を示すことから、TAF-I $\alpha$  N 末端領域が自身のヒストン H1 シャペロン活性を抑制する可能性が示唆された。そこで著者は、N 末端領域を部分的に欠損した TAF-I $\alpha$  変異体を解析し、TAF-I $\alpha$  の N 末端領域の前半 1-17 アミノ酸配列が、ヒストン H1 シャペロン活性を抑制する領域であることを示している。TAF-I $\alpha$  の N 末端領域は  $\beta$  と比較し塩基性アミノ酸に富む。そこで TAF-I $\alpha$  N 末端領域の塩基性アミノ酸をアラニンに置換した TAF-I $\alpha$  変異体のヒストン H1 シャペロン活性を検討し、TAF-I $\beta$  とほぼ同等であることを示した。以上の結果より、TAF-I $\alpha$  N 末端領域に含まれる塩基性アミノ酸が、TAF-I $\alpha$  のヒストン H1 シャペロン活性を抑制することを明らかにしている。X 線結晶構造解析の結果より、アンチパラレルに 2 量体を形成することで TAF-I の N 末端領域と C 末端領域は近接することが示されている。そこで、塩基性アミノ酸に富んだ TAF-I $\alpha$  N 末端領域は、酸性アミノ酸に富んだ C 末端領域に相互作用することで自身のヒストン H1 シャペロン活性を抑制するのではないかと仮説をたてている。TAF-I の N 末端領域のみを GST に結合させたタンパク質と、TAF-I $\Delta$ N1 の相互作用をゲルシフト法で確認すると、TAF-I $\alpha$  の N 末端領域のみが TAF-I $\Delta$ N1 と相互作用し、TAF-I $\beta$  及び TAF-I $\alpha$  N 末端領域アラニン置換変異体では相互作用しないことが明らかになった。次に、TAF-I の N 末端領域と、C 末端領域の一部に由来する  $\alpha$ 237-257 C 末端領域との相互作用をクロスリンク法で検討している。その結果、TAF-I $\alpha$  の N 末端領域のみが  $\alpha$ 237-257 C 末端領域と相互作用することを示している。以上の結果より、TAF-I $\alpha$  の N 末端領域が C 末端領域と相互作用すること、またそれは N 末端領域中の塩基性アミノ酸に依存することが明らかにされた。さらに、2 量体構造をとったときにも TAF-I $\alpha$  の N 末端及び C 末端領域が相互作用するかを、全長 TAF-I $\alpha$  を用いた FLAsH ラベル法で検討している。FLAsH ラベル法では、システインタグを導入した領域が近接すると蛍光を発する。この実験の結果、TAF-I $\alpha$  の N 末端領域中の Lys13 が、主に C 末端領域中の Glu246 と近接することが明らかにされた。TAF-I $\alpha$  あるいは  $\beta$  のヒストン H1 シャペロン活性を持たない C 末端領域欠損変異体 (TAF-I $\Delta$ C3) と TAF-I $\beta$  の間でヘテロ 2 量体を形成させ、それらのヒストン H1 シャペロン活性を比較している。その結果、TAF-I $\beta$ / $\alpha$  $\Delta$ C3 ヘテロ 2 量体は、TAF-I $\beta$ / $\beta$  $\Delta$ C3 ヘテロ 2 量体よりもヒストン H1 シャペロン活性が低いことを明らかにした。以上の結果から著者は、TAF-I $\alpha$  N 末端領域が TAF-I $\beta$  の C 末端領域へ相互作用したことで、TAF-I $\beta$  に由来するヒストン H1 シャペロン活性を抑制した可能性を示唆している。

### (考察)

TAF-I $\alpha$  N 末端領域中の Lys13 は、主に C 末端領域中の Glu246 へ近接することが示唆されている。過去の報告から、この領域は TAF-I のコアヒストンシャペロン活性や、アデノウイルス由来コアタンパク質 PreVII との結合にも重要な領域である。TAF-I C 末端領域が特異的な 2 次構造をとるという報告はないが、TAF-I の C 末端領域中にはヒストンシャペロン活性に重要なサブドメインが存在し、TAF-I $\alpha$  の N 末端領域がこの領域に結合することで、効率よく自身のヒストン H1 シャペロン活性を抑制する可能性を示唆している。

### (結論)

TAF-I $\alpha$  N 末端領域は C 末端領域に相互作用することで自身のヒストン H1 シャペロン活性を抑制する。この相互作用は、TAF-I $\alpha$  N 末端領域に存在する塩基性アミノ酸に依存し、 $\beta$  では観察されないことから TAF-I $\alpha$  特異的な制御であることを明らかにしている。

## 審査の結果の要旨

### (批評)

本研究は、ヒストン H1 シャペロン TAF-I に N 末端領域のみ異なる  $\alpha$  及び  $\beta$  のサブタイプが存在し、TAF-I $\alpha$  は、TAF-I $\beta$  と比較してヒストン H1 シャペロン活性が弱いことに注目し、TAF-I $\alpha$  N 末端領域の機能を検討したものである。その結果、TAF-I $\alpha$  N 末端領域は C 末端領域に相互作用することで自身のヒストン H1 シャペロン活性を抑制することを示している。この相互作用は、TAF-I $\alpha$  N 末端領域に存在する塩基性アミノ酸に依存し、 $\beta$  では観察されないことから、各サブタイプの発現比率が変化することで、TAF-I のヒストン H1 シャペロン活性の制御に関与していることが示唆される。本研究は当該分野における研究の世界における動向を十分に考慮されて計画されており、信頼性の高い研究結果が得られ、学術的価値の高いオリジナルな研究成果が得られていると評価する。

平成 29 年 3 月 30 日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもと論文について説明を求め、関連事項について質疑応答を行い、学力の確認を行った。その結果、審査委員全員が合格と判定した。

よって、著者は博士（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認める。