

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 島津 忠広

タンパク質のリジン残基に起こるアセチル化修飾はタンパク質の機能や局在、安定性において重要な役割を果たすことが知られている。最近では、ヒストンあるいは転写因子のみならず、細胞内の数多くのタンパク質がアセチル化による制御を受けることが判明しつつある。本研究は動物細胞において、アセチル化タンパク質を網羅的に探索、同定し、そのアセチル化の生理的意義を解明することを目的としたものである。

脱アセチル化酵素 (HDAC) の特異的阻害剤であるトリコスタチン A (TSA) および ニコチンアミド (NA) を処理し、アセチル化を亢進させた動物細胞からアセチル化リジン (AcLys) を特異的に認識する抗体を用いた免疫沈降によりアセチル化タンパク質を精製し、質量分析により同定した。その結果、ヒストンや p53 などの既知アセチル化タンパク質のほか、多くの新規アセチル化タンパク質を同定することに成功した。本研究では、特に新規アセチル化タンパク質について各々のアセチル化が果たす役割を解明することで、リジンアセチル化修飾の生物的多様性を明らかにした。

(1) 細胞質微小管のアセチル化

HDAC6 が微小管構成タンパク質の一つである α -チューブリンの脱アセチル化酵素であることを明らかにした。また、アセチル化による生理的意義に関しては、アセチル化された微小管は安定化し、薬剤が引き起こす微小管の脱重合に対して遅延が生じることを見出した。さらに HDAC6 による脱アセチル化は主に脱重合状態のチューブリンで引き起こされ、逆にアセチル化は重合状態で起きることを明らかにした。

(2) ウイルスタンパク質のアセチル化

DNA ウイルス発癌タンパク質 T-Ag のアセチル化酵素として CBP を、また脱アセチル化酵素として HDAC1, HDAC3 および SIRT1 を同定した。また、アセチル化修飾の役割として、T-Ag はアセチル化により分解が促進されることを見出した。さらに NIH3T3 細胞にアセチル化を模した変異体である T-Ag-K697Q 変異体を安定発現させた細胞株では、野生型 T-Ag を発現させた細胞に比べ、足場非依存的な増殖が抑制されたことから、T-Ag のアセチル化はタンパク質の安定性を低下させることが示唆された。

(3) mRNA プロセッシング複合体のアセチル化

mRNA のプロセッシング因子である cleavage factor Im 25 kDa (CFIm25) のアセチル化部位は lysine-23 であることを明らかにした。さらに、mRNA の poly(A) 付加酵素である poly(A) polymerase (PAP) も lysine-635/644/730/734 がアセチル化されることを見出した。これらのタンパク質の修飾酵素を同定し、CFIm25 のアセチル化はプロセッシング複合体の

形成に依存して起こることを明らかにした。また、アセチル化により CFIm25 と PAP の結合が解離することを見出した。さらにアセチル化が PAP と importin β との結合を阻害し、PAP の細胞内局在を制御していることを明らかにした。

(4) 分子シャペロンのアセチル化

Hsp90 のコシャペロンの一つである activator of Hsp90 ATPase (Aha1) をアセチル化タンパク質として同定した。Aha1 は熱ショックやプロテアソーム阻害などの刺激により HDAC6 との結合が解離し、アセチル化が亢進することを示した。Hsp90 と Aha1 の結合はアセチル化によって阻害され、また Aha1 による Hsp90 活性化もアセチル化により抑制されたことから、HDAC6 によるアセチル化調節は Hsp90 のみならず Aha1 にも起こり、Hsp90 複合体の活性を調節していることを明らかにした。

(5) アクチン結合タンパク質のアセチル化

Cortactin のアセチル化部位は F-actin との結合に必須な cortactin repeat 領域であると同定し、その修飾酵素が CBP、SIRT1 であることを明らかにした。さらに cortactin が核・細胞質間をシャトルし、核内でアセチル化、脱アセチル化修飾を受けることを示した。また、アセチル化は F-actin との結合を阻害し、細胞の運動性を低下させることを明らかにした。

本研究ではヒストン・転写因子では重要な役割を果たすことが知られているリジンアセチル化修飾が、細胞骨格と細胞運動性 (α -チューブリン、cortactin)、シャペロン (Aha1)、mRNA プロセッシング (CFIm25、PAP) やウイルスタンパク質 (T-Ag) の制御にも関わっていることを明らかにし、タンパク質アセチル化の多様性を示した。また、クラス I/II HDAC のみならず、クラス III HDAC もタンパク質の脱アセチル化に関与し、共役的に細胞内アセチル化レベルを調節していることを示した。以上の成果はこの分野に新知見をもたらした研究として意義がある。よって審査委員一同は、本論文が、博士 (農学) の学位論文として価値あるものと認めた。