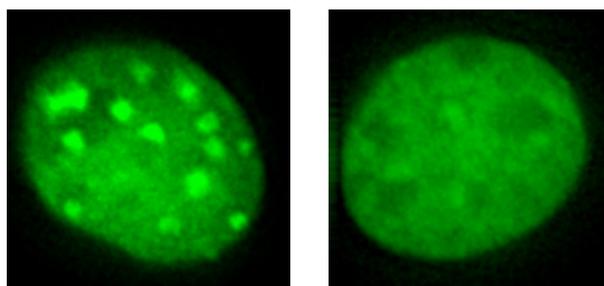


ヘテロクロマチン制御に新たな知見

2011年2月10日

核内の DNA はヒストンタンパク質に巻き付いてクロマチンと呼ばれる構造をつくり、場所によってはさらに凝集したヘテロクロマチンを形成している。ヘテロクロマチンの形成はゲノムの安定化に寄与すると共に、その領域の遺伝子発現を広範囲に抑制するため、各細胞における遺伝子発現パターンの確立にも役割を果たしている。ヘテロクロマチンの構成因子の一つである HP1 は、遺伝子発現の抑制に重要な役割を果たし、また、ヘテロクロマチンの形成と維持にも関与していると考えられている。

理研 CDB の濱田京子研究員（クロマチン動態研究チーム、中山潤一チームリーダー）らは、哺乳類の HP1 α がリン酸化を受けることでクロマチンへの結合能を増し、染色体の安定化に寄与していることを明らかにした。この研究成果は *Molecular and Cellular Biology* 誌の3月号に掲載されている。



野生型の HP1 α はヘテロクロマチン領域に局在するのに対し（左、緑）、N 末端のリン酸化を欠いた HP1 α はヘテロクロマチン領域に局在しなくなる（右）。

HP1 はショウジョウバエで発見され、現在では広く真核細胞でヘテロクロマチンにおける転写抑制に機能することが知られている。HP1 は N 末端にクロモドメイン (CD)、C 末端にクロモシャドウドメイン (CSD) をもつ。CD がメチル化されたヒストン H3 (H3K9me3) に結合し、さらに CSD が HP1 同士を結合させることにより、ヘテロクロマチンの形成と維持にも寄与すると考えられている。一方、HP1 自身はリン酸化によって調節されることが示唆されていたが、その詳細は明らかでなかった。

今回、濱田研究員らは哺乳類の HP1 がリン酸化によってどのように制御されているのかを探った。まず、哺乳類がもつ HP1 α 、HP1 β 、HP1 γ とメチル化ヒストン H3 (H3K9me3) との結合解析を行った。その結果、HP1 β と HP1 γ はリン酸化の有無に関わらず H3K9me3 と強く結合するのに対し、HP1 α はリン酸化依存的に結合していることが示唆された。そこで、リン酸化状態を詳細に解析することができる Phos-tag-PAGE を行ったところ、HP1 α が複数のリン酸化を受けることや、分裂中期にリン酸化レベルが上昇することなどが分かった。

次に、HP1 α のリン酸化部位を特定するために、アミノ酸置換と Phos-tag-PAGE を組み合わせた実験を行った。その結果、N 末端の 14 番セリンが主にリン酸化されていること、さらに分裂中期にはヒンジ領域の 93 番セリンがリン酸化されることが明らかになった。質量分析による解析では、N 末端の 11~13 番セリンのリン酸化も検出された。これらのリン酸化とヒストンに対する結合能との関係を調べたところ、ヒンジ部ではなく、N 末端のリン酸化が H3K9me3 との結合能を上げていることがわかった。また、別の解析により、N 末端のリン酸化は H3K9me3 との結合を促進するが、その維持には必要ないことが示された。

これらの生化学的な解析に加え、細胞内における HP1 α のリン酸化の意義についても検証した。まず、マウスの培養細胞において HP1 α の局在を解析した。その結果、14 番セリンのリン酸化が起こらないようにアミノ酸置換した HP1 α では、正常な HP1 α と比較して、ヘテロクロマチン領域への局在が減少することがわかった。同様の実験により、11~13 番セリンのリン酸化もヘテロクロマチン領域への局在に寄与していることが示された。そこで、11~14 番セリンをアミノ酸置換した HP1 α をマウスの培養細胞で安定的に発現させたところ、これらの細胞では染色体異常が増加し、複数の染色体異常が同時に起きている細胞も見られた。一方で、93 番セリンは分裂中期にリン酸化レベルが上昇するものの、このリン酸化が起こらないようにしても、細胞周期を通して HP1 α の局在に変化は見られなかった。

中山潤一チームリーダーは、「今回、HP1 α の N 末端のリン酸化がメチル化ヒストンとの結合を増強していることが分かりました。クロモドメイン (CD) だけでは結合能が十分でないことが示されていまして、それを補完する結果と言えます。また、リン酸化の有無が染色体の安定性に大きく影響することも興味深い結果です」と話す。「今後、HP1 α のリン酸化がどのように制御されているのか、また、93 番セリンのリン酸化がどのような機能をもつのかを明らかにしていきたいと思います」。