

論文内容の要旨

申請者氏名 三村恭弘

哺乳動物細胞核の機能的サブコンパートメントである PML-NBs (promyelocytic leukemia-nuclear bodies) に局在化しているタンパクの一つである MORC3 (microchidia family CW-type zinc finger 3) は、N 末端側に GHL-ATPase domain、CW domain、C 末端側に Coiled-coil domain と複数の SUMO (small ubiquitin-like modifier) 化サイトを有している。本研究は、この MORC3-NDs (MORC3-nuclear domains) 形成の分子機構と、PML-NBs との相互作用の分子機構の解明を目的として行った。

MORC3 の各ドメインの核内局在における役割を検討するため、それぞれのドメイン変異体を作製し、それらの核内局在を免疫染色法により確認した。その結果、MORC3-NDs は核マトリックスに結合した構造体であり、ATPase domain 依存的に ND 構造の形成および解離・拡散を行い、核全体の核マトリックスに結合することが明らかになった。さらに、この構造体は DNase 処理により破壊され、核全体の核マトリックスに局在化することが明らかになった。このことは MORC3-NDs 形成には DNA もしくはヒストンが必要であることを示唆している。

次に、MORC3-NDs の形成と、ATP の結合と加水分解の関係について検討するため ATP と非分解性 ATP アナログ AMP-PNP を用いた *in situ* MORC3-ND 拡散アッセイを行った。その結果、MORC3 は ATP の結合と加水分解というサイクルによって、ND 構造の形成、ND 構造からの解離・拡散、核マトリックスへの結合という局在変化が制御されていることが示唆された。さらに、MORC3 は Coiled-coil domain を介して恒常的に二量体を形成し、ATP の結合によって ATPase domain 同士が相互作用することが明らかになった。

PML-NBs にタンパクが局在するには直接的および、SUMO と SIM (SUMO interacting motif) による間接的な相互作用がある。我々は MORC3 の 597、650、651、740、794 番目のリシン残基が SUMO 化サイトであることを明らかにし、さらに、MORC3 と PML 1 は SUMO-SIM 相互作用によって共局在しており、それぞれに変異を加えることによって、互いに独立した構造体を形成することが明らかになった。

以上の結果から、MORC3 は拡散状態から ATP 依存的に ND 形成と解離・拡散を行い、SUMO 化依存的に PML-NBs と会合する非常にダイナミックな挙動をもつタンパクであることが明らかとなった。さらに MORC3-ND は DNA もしくはヒストンと結合している可能性が非常に高い。これらのことから、MORC3-ND はそのダイナミックな挙動により、転写調節を行っていると考えられ、今後の重要な研究課題であると考えている。

論文審査結果の要旨

申請者氏名 三村恭弘

哺乳動物の細胞核には、多くの機能的サブコンパートメントが存在している。そのサブコンパートメントの一つである PML-NBs (promyelocytic leukemia-nuclear bodies) は、主として PML タンパクにより構成された構造体である。この PML-NBs は様々なタンパクが一時的に、または恒常的に局在化することで細胞周期や転写、アポトーシス、細胞老化などの様々な細胞プロセスを制御することが知られている。

申請者は PML-NBs に局在化しているタンパクの一つである MORC3 が Pml-NBs 非依存的にドメイン構造 (MORC3-nuclear domains : MORC3-NDs) を形成していることに注目し、その MORC3-NDs 形成の分子機構と、PML-NBs との相互作用の分子機構の解明を目的として研究を行った。

まず、MORC3 の各ドメインの核内局在における役割を検討するため、それぞれのドメイン変異体を作製し、それらを利用した解析の結果、MORC3-NDs は核マトリックスに結合した構造体であり、ATPase ドメイン依存的に ND 構造の形成および解離・拡散を行い、核全体の核マトリックスに結合すること、核全体の核マトリックスに局在化することなどを明らかにした。

次に MORC3-NDs の形成と、ATP の結合と加水分解の関係について検討を行い、MORC3 は ATP の結合と加水分解というサイクルによって、ND 構造の形成、ND 構造からの解離・拡散、核マトリックスへの結合という局在変化が制御されていることを示すデータを得た。また、MORC3 は coiled-coil ドメインを介して恒常的に二量体を形成し、ATP の結合によって ATPase ドメイン同士が相互作用することも明らかとなった。さらに、MORC3 が SUMO 化修飾を受けることに着目し、その役割を解析した結果、MORC3 と PML I は SUMO-SIM 相互作用によって共局在しており、MORC3 は単独で ND 形成した後に PML-NB と相互作用する場合と、PML-NB に直接集積して ND を形成する場合とが存在することを明らかにした。

申請者は、以上の結果から、MORC3 は拡散状態から ATP 依存的に ND 形成と解離・拡散を行い、SUMO 化依存的に PML-NBs と会合する非常にダイナミックな挙動を示すタンパクであることを明らかとし、さらに、MORC3-ND が転写調節を行うメカニズムを考察するうえで重要な手がかりを得た。

以上のように、本論文は細胞核コンパートメントの構築に関わる制御機構の一端を明らかにするとともに、その知見に基づき、細胞核のダイナミックな挙動を示したもので、学術上貢献するところが少なくない。よって審査委員一同は、本論文が博士 (バイオサイエンス) の学位論文として価値あるものと認めた。