

# 博士論文審査報告書

氏名	野田 昂文 (ノダ かつぶ)
学位の種類	博士 (理学)
学位記番号	博理第93号
学位授与報告番号	甲第263号
学位授与年月日	平成28年3月22日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
論文題目	Functional regulation of the nuclear lamina by SUMOylation pathway 「SUMO 化経路による核ラミナの機能調節機構」
論文審査委員	(主査) 教授 阪口 雅郎 (副査) 教授 樋口 芳樹 (副査) 教授 吉田 秀郎 (副査) 教授 田中 克典 (関西学院大学研究科) (副査) 准教授 廣瀬 富美子

## 1. 論文内容の要旨

真核生物の核膜直下には核ラミナとよばれる中間径フィラメントの網目構造がある。核ラミナは様々なたんぱく質因子と相互作用し、多様な核内反応を調節する。しかしながら、核ラミナの機能を調節する分子基盤については未解明である。本論文では、たんぱく質の翻訳後修飾である SUMO (small ubiquitin-like modifier) 化による核ラミナの機能調節について検討した。核ラミナの主要構成因子であるラミン A は、SUMO 化サイトと SIM (SUMO interacting motif) 配列をもつ。これらの配列の生理的意義を解明するために、SUMO 化サイトと SIM 配列に変異を導入した変異型ラミン A を発現させた細胞の表現型を詳細に解析した。ラミン A の SUMO 化の低下を伴う 2 種類のラミン A 変異体(K201R, E203G)のうち、家族性拡張型心筋症 (FDC) の原因である E203G のみが、優性阻害的に、核膜直下のヘテロクロマチンを減少させ、長期培養すると多核や核形態の異常を伴う細胞老化を誘導した。この結果は、SUMO 化の減少が FDC 発症の原因ではないことを示唆する。また、SIM 配列の機能解析においては、ラミン A が有糸分裂終期染色体上での脱リン酸化およびそれに続く核ラミナ構築の過程において SIM 配列が重要な役割をもつことを

明らかにした。さらに、細胞内の SUMO 化阻害実験から、ラミン A の脱リン酸化と核ラミナ構築の制御には、SUMO 化タンパク質が関与していることが示唆された。この SUMO 化因子の候補として PP1 $\gamma$  の regulatory subunit である RepoMan の解析を行った。RepoMan は lamin A と細胞内で相互作用し、その相互作用は RepoMan の SUMO 化により強められることを見出した。さらに、RepoMan のノックダウン実験およびレスキュー実験の結果から、SUMO 化 RepoMan とラミン A の SIM の相互作用が、ラミン A の分裂期終期染色体上での脱リン酸化と、核ラミナの再構築の時空間的に制御に関与しているという分子機構を提案した。

## 2. 論文審査結果

本論文では、タンパク質の翻訳後修飾のひとつである SUMO 化による核ラミナの機能調節についての新しい概念を提案している。これまで報告された多くの研究から、核ラミナは核膜やクロマチンとの相互作用を介して、転写、DNA 複製、DNA 修復などの様々な核内反応の調節に関与していることがわかっている。しかしながら、核ラミナの機能の調節メカニズムについては不明な点が多い。本論文では核ラミナの主要構成因子であるラミン A ポリペプチドに存在する SUMO 化配列と SIM (SUMO interacting motif) 配列に着目し、これらの配列にアミノ酸置換を導入したラミン A の生化学的、細胞生物学的解析を行い、SUMO 化経路による核ラミナの調節機構を探求した。その結果、SUMO 化の意義に関しては解明できなかったものの、家族性拡張型心筋症 (FDC) の原因であるラミン A の E203G が野生型ラミン A に対して優性阻害活性があることや、長期発現により細胞老化を誘導することなどを見出し、ラミン A 変異による FDC 発症機構を解明する手がかりを提供した。また、SIM 配列に関しては、この配列が分裂期の完了に必須なラミン A の脱リン酸化および核ラミナの再構築において重要な役割を担っていることを明らかにした。さらに、この過程の正常な進行には protein phosphatase 1 $\gamma$  の調節サブユニット RepoMan に結合した SUMO と、ラミン A の SIM 間の相互作用が関与していることを示した。この結果は、これまで未解明であった分裂期終期以降における核ラミナの再構築の調節機構の一端を明らかにしたものである。

よって、本論文は博士（理学）の学位論文として価値あるものと認める。

また、平成 28 年 1 月 25 日、論文内容およびこれに関連する事項について試問を行った結果、合格と判定した。