

2015年度個人特別研究費 研究成果概要

所属・職・氏名：理工学部・教授・田中克典

研究課題：テロメア長維持の新たなバックアップ機構の探索

研究期間：2015年4月1日～2016年3月31日

研究成果概要（2,000字程度）

テロメアは染色体の末端に位置しており、特異的な配列であるテロメアリピートとテロメアリピートに結合するタンパク質で構成されている。テロメアはDSB (Double strand break) と類似した構造をしているが、テロメア結合タンパク質によってキャッピングされているため、DNA修復機構から保護されている。テロメア結合タンパク質群の一つにシェルタリン複合体があり、酵母からヒトにまで高度に保存されている。テロメアの長さ制御は、真核生物の個体の生命維持や種の保存にとって、極めて重要である。体細胞では、細胞が分裂する度にテロメア配列が少しずつ失われていく。よって、テロメアの長さは細胞の分裂回数を測る尺度としてはたらく、「分裂時計」もしくは「老化時計」とも呼ばれている。我々はこれまでに、分裂酵母において、「ユビキチン様タンパク質翻訳後修飾因子であるSUMO (Small Ubiquitin-like Modifier) によるタンパク質修飾がテロメアの長さの制御に重要であること」を見出している (Tanaka, *et al.*, *Mol. Cell. Biol.*, 1999)。しかしその後、誰もこの重要な現象を分子レベルで説明する事ができないままであった。我々はごく最近、「分裂酵母のテロメラーゼの働きを負に制御するテロメアシェルタリン複合体構成タンパク質の一つであるTpz1がSUMOによる修飾を受け、その修飾がテロメラーゼの働きを制御する」ことを分子レベルで解明することに成功し、論文発表した (Miyagawa, *et al.*, *PNAS*, 2014)。

上記の研究過程で、「SUMO化修飾消失によりテロメアは顕著に伸長するが、それでもある一定の長さに収束する」という現象に着目した。例えば、他のシェルタリン複合体因子の破壊株ではより著しくテロメアが伸長する。これらの事実は、「テロメア長制御の新たなバックアップ機構の存在」を強く示唆するものである。

我々は最近、Tpz1のSUMO化消失時にテロメア結合タンパク質である*rif1*を欠損させると、テロメアが相乗的に過剰に伸長することを見出した。このことから、Tpz1のSUMO化によるテロメア長制御にRif1が重要な役割を果たしているのではないかと考え、Rif1のテロメア長に与える影響について検証を行った。まず、Rif1発現プラスミドに変異を導入し、テロメア長に与える影響を検証した。その結果、Rif1の多量体化に必要なC末端を欠損したプラスミドを発現させると、テロメアの過剰伸長が見られた。一方、内在性レベルで*rif1*に変異を導入すると、C末端を欠損させた株及びPP1 (Protein Phosphatase 1) 結合ドメイン能を消失させた株の両方でテロメアの過剰伸長が見られた。

一方、我々はRif1がSUMO E3リガーゼであるPli1と相互作用することをyeast two-hybrid法によって見出している。しかし、両タンパク質の相互作用の意義については明らかとなっていない。そこで、タンパク質レベルでの相互作用について免疫沈降法を用いて検証することで、相互作用の意義の解明を試みた。しかし、Rif1とPli1の相互作用を確認することは出来なかった。

また、テロメア局在に両タンパク質が互いに影響を与えるかをChIP-qPCRにて検証を行った。しかし、Rif1のテロメア局在に関しては株間でバラつきが生じた。一方、Pli1のテロメア局在には*rif1*が欠損しても顕著な影響は見られなかった。

以上の結果から、テロメア長の新たなバックアップ機構としてのRif1を介した経路を見出すことに成功した。また、その機構にはRif1の多量体化およびタンパク質フォスファターゼ (PP1) を呼び込む能力が関与していることを見出した。