

(様式3号)

学位論文の要旨

氏名 岡田 真理子

〔題名〕

Analysis of HSF1 condensates formed by liquid-liquid phase separation on the HSE array derived from *HSP72* promoter.

(熱ショック遺伝子 *HSP72* のプロモーター由来の HSE アレイ上で液-液相分離する HSF1 凝縮体の解析)

〔要旨〕

細胞は熱ストレスなどのタンパク質毒性ストレスにさらされると、熱ショックタンパク質群 (HSPs) を誘導することで適応する。この適応機構は熱ショック応答と呼ばれ、熱ショック転写因子 HSF1 によって主に転写レベルで制御される。活性化された HSF1 は *HSP* 遺伝子プロモーターに存在する熱ショック応答配列 (HSE) に結合し、メディエーターを含む転写開始前複合体を集積させることで転写を促進する。一般に、転写因子及びその調節因子は液-液相分離によってプロモーター上に凝縮体を形成すると考えられている。しかし、*HSP* 遺伝子プロモーター上でも同様かどうかについては、凝縮体が微小であるために十分な解析ができていない。本研究では、ヒト *HSP72* プロモーター由来の HSE を多数連結したレポーター遺伝子をマウス細胞に導入した。この HSE レポーター遺伝子を持つ細胞に蛍光タンパク質 mEGFP を融合した HSF1 を発現させることで、熱ストレス条件下で HSF1 凝縮体を可視化することに成功した。この人工的な HSF1 凝縮体は部分的に液体様の性質を持つ、すなわち液-液相分離により形成されていた。また、大腸菌から精製したタンパク質を用いた実験から、HSF1 の天然変性領域 (IDR) が相分離に寄与することも分かった。さらにこの実験系を用いて、HSF1 凝縮体の形成が転写調節因子によって制御されるかを調べた。特に、熱ショック応答を促進するメディエーターの一つである MED12 に着目して解析したところ、MED12 の IDR は HSF1 凝縮体に集積すること、そして MED12 の発現抑制は HSF1 の凝縮体形成を著しく抑制することが明らかとなった。本研究は、*HSP72* プロモーター上の HSF1 凝縮体を解析する実験系を提示するとともに、それが転写調節因子によって制御されることを示唆する。

作成要領

1. 要旨は、800字以内で、1枚でまとめること。
2. 題名は、和訳を括弧書きで記載すること。

学位論文審査の結果の要旨

令和5年5月30日

| | | | |
|--|-------------------|-------|--------|
| 報告番号 | 甲 第 1677 号 | 氏 名 | 岡田 真理子 |
| 論文審査担当者 | 主査教授 | 池田 栄二 | |
| | 副査教授 | 玉田 耕治 | |
| | 副査教授 | 中井 章三 | |
| 学位論文題目名 (題目名が英文の場合、行を変えて和訳を括弧書きで記載する。) | | | |
| Analysis of HSF1 condensates formed by liquid-liquid phase separation on the HSE array derived from <i>HSP72</i> promoter (熱ショック遺伝子 <i>HSP72</i> のプロモーター由来の HSE アレイ上で液-液相分離する HSF1 凝縮体の解析) | | | |
| 学位論文の関連論文題目名 (題目名が英文の場合、行を変えて和訳を括弧書きで記載する。) | | | |
| The Mediator subunit MED12 promotes formation of HSF1 condensates on heat shock response element arrays in heat-shocked cells (MED12 は HSE アレイ上の HSF1 凝縮体の形成を促進する) | | | |
| 掲載雑誌名 FERS Letters doi.org/10.1002/1873-3468.14617 | | | |
| 第 卷 第 号 P. ~ (2023 年 月 掲載予定, doi: 10.1002/1873-3468.14617. Mar 27 [Online ahead of print]) | | | |
| 著者 (全員を記載) Mariko Okada, Mitsuaki Fujimoto, Pratibha Srivastava, Akanksha Pandey, Ryosuke Takii, Akira Nakai | | | |
| (論文審査の要旨) | | | |
| <p>細胞は熱ストレスなどのタンパク質毒性ストレスに対して熱ショックタンパク質群 (HSPs) を誘導することで適応する。この適応機構は熱ショック応答と呼ばれ、熱ショック転写因子 HSF1 によって制御される。活性化 HSF1 は <i>HSP</i> 遺伝子プロモーター上の熱ショック応答配列 (HSE) に結合し、メディエーターを含む転写開始前複合体を集積させて転写を促進する。一般に、転写因子及びその調節因子は液-液相分離によってプロモーター上に凝縮体を形成する。しかし、<i>HSP</i> 遺伝子プロモーター上でも同様かどうかは、凝縮体が微小であるために十分な解析ができていない。本研究では、ヒト <i>HSP72</i> プロモーター由来の HSE を多数連結したレポーター遺伝子をマウス細胞に導入した。この HSE レポーター遺伝子を持つ細胞に mEGFP-HSF1 融合タンパク質を発現させることで、熱ストレス条件下で HSF1 凝縮体を可視化することに成功した。この人工的な HSF1 凝縮体は部分的に液体様の性質を持つ、すなわち液-液相分離により形成されていた。また、精製タンパク質を用いた実験から、HSF1 の天然変性領域 (IDR) が相分離に寄与することも分かった。さらにこの実験系を用いて、HSF1 凝縮体の形成が転写調節因子によって制御されるかを調べた。特に、メディエーター-MED12 に着目して解析したところ、その IDR は HSF1 凝縮体に集積し、そして MED12 の発現抑制は HSF1 の凝縮体形成を抑制した。本研究は、核内 HSF1 凝縮体を解析する実験系を提示するとともに、それが転写調節因子によって制御されることを示唆する。</p> <p>本研究成果は、熱ショック応答で顕著に転写誘導される <i>HSP72</i> のプロモーター上に形成される HSF1 凝縮体を解析する実験系を確立し、その凝縮体が転写調節因子によって制御されることを初めて示唆したものであり、学位論文として価値あるものと認めた。</p> | | | |
| 備考 審査の要旨は800字以内とすること。 | | | |