

Title	マウスサイトケラチン EndoA エンハンサーの解析
Author(s)	藤村, 康夫
Citation	大阪大学, 1994, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/38871
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名	藤村康夫
博士の専攻分野の名称	博士(理学)
学位記番号	第 11225 号
学位授与年月日	平成6年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 理学研究科生物化学専攻
学位論文名	マウスサイトケラチン EndoA エンハンサーの解析
論文審査委員	(主査) 教授 倉光 成紀 (副査) 教授 小川 英行 教授 浅野 朗

論文内容の要旨

マウスの初期発生では胚盤胞期に最初の分化が起こり、未分化な内部細胞塊と栄養外胚葉に分かれる。サイトケラチン EndoA はこの栄養外胚葉で強く発現を始め、さらに内部細胞塊より生じる胚体外内胚葉でも発現する分化マーカーである。私はこの最初の分化の分子的機構を明らかにすることを目的とし、EndoA 遺伝子が分化に伴って発現するために必要な遺伝子領域を同定し、その領域に働く因子を解析した。初期胚に相同な細胞系としてテラトーマを選び、EndoA を発現する分化型テラトーマ PYS-2 においてプロモーターに cis に働く領域を検索した。方法としては、EndoA 遺伝子のプロモーターを chloramphenicol acetyl transferase (CAT) 遺伝子の 5' 上流に組み込んだテストプラスミドを構築し、そのプラスミドに制限酵素消化して得られたゲノム断片を組み込んで細胞に導入した。その結果遺伝子の 1kbp 下流に EndoA の細胞特異的な発現調節に関与している可能性を持つエンハンサーを同定できた。EndoA エンハンサーは 22bp の共通配列が 6 回繰り返すという特異な構造をしており、この繰り返しの数を変化させた再構成エンハンサーにおける活性の比較から、繰り返しの数がエンハンサーの活性を維持するうえで必要である。さらに 22bp の共通配列中には、プロトオンコジーン Ets の結合モチーフが 2 ケ所にありそれぞれを EBS1、EBS2 と名付けた。Ets は DNA 結合領域がよく保存されている gene family を形成し、DNA との結合に共通なコア配列を必要とする。EndoA エンハンサーのコア配列に変異を導入して、エンハンサーの活性を比較した結果 EBS-1 がエンハンサーの活性に必須であり、EBS-2 は付加的に作用することが示された。また EndoA を発現する細胞の核内に EBS1 に結合する因子が存在していた。この因子は Ets である可能性が高いため Ets family の内で Ets-1 を選びエンハンサーとの結合を調べたところ、in vitro でエンハンサーに結合した。そこで、Ets family の Ets domain の相同性を元にして degenerated primer による RT-PCR を行った所、4 種類の Ets が発現していることが示された。その内の 1 つである Ets-2 についてエンハンサーへの作用を調べたところ、エンハンサーへの結合および活性化の両方に EBS1 を必要とした。そこで Ets-2 の抗体をもちいてエンハンサーに結合する核内因子を調べてみたが、Ets-2 はこの因子中には含まれていなかった。従って他の 3 種の Ets の内で Ets-2 と似た結合の特異性を示すものがエンハンサーの活性化を行っていると思われる。以上のように本研究では EndoA のエンハンサー領域を明らかにし、そのエンハンサーに作用する因子が Ets であること、実際に EndoA を発現する細胞で 4 種類の Ets が発現していることを明らかにした。

論文審査の結果の要旨

中間径フィラメントを構成するマウス・サイトケラチンの遺伝子 (EndoA) の約 1 kb 下流に組織特異性を示すエンハンサーが存在し, そのエンハンサーは転写調節因子 (Ets) によって正の制御を受けていることを明らかにした。これらの成果は, 博士 (理学) の学位論文として十分価値あるものと認める。