



Title	Identification of two distinct promoters in the chicken caldesmon gene
Author(s)	矢野, 元
Citation	大阪大学, 1995, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/39045">https://hdl.handle.net/11094/39045</a>
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。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

氏 名	矢 野 元 <sup>はじめ</sup>
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 1 7 5 7 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 7 年 3 月 23 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学研究科生理系専攻
学 位 論 文 名	Identification of two distinct promoters in the chicken caldesmon gene (ニワトリカルデスモン遺伝子における異なる二つのプロモーター領域の同定)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 祖父江憲治  (副査) 教 授 平野 俊夫    教 授 宮坂 昌之

### 論 文 内 容 の 要 旨

#### 【目的】

カルデスモンは、平滑筋細胞および非筋細胞における  $\text{Ca}^{2+}$  依存性アクチン-ミオシン相互作用のアクチン側制御因子である。このカルデスモンには大別して二つのアイソフォームが存在し、平滑筋細胞においては高分子量型の *h*-カルデスモンが、非筋細胞においては低分子量型の *l*-カルデスモンがそれぞれ優先的に発現する。またこれらのアイソフォーム発現変換および発現量の変化が、平滑筋細胞の形質転換と非常に良く対応することが知られており、平滑筋細胞の最良の分化マーカーとされている。こうしたカルデスモン発現調節のメカニズムを明らかにすることが、平滑筋細胞の分化・脱分化の分子的背景解明へのアプローチとして有効であると考えられる。本研究では、ニワトリカルデスモン遺伝子の構造解析を行い、カルデスモン遺伝子 5'-上流領域に同定された二つのプロモーターのうち、砂囊筋型プロモーターの転写調節機構を解析した。

#### 【方法ならびに成績】

ニワトリカルデスモンアイソフォームにおいては、砂囊筋型、および脳型の異なる二種類の N-末端部配列が存在し、遺伝子構造の解析からそれぞれに特異的なエクソンと各々の上流域のプロモーターをすでに同定している。本研究では、これらのうちニワトリ胚繊維芽細胞 (CEFs) に強い転写活性を示す砂囊筋型プロモーターによる転写調節機構について詳細な検討を行った。

砂囊筋型プロモーター中には、複数の E-ボックス、および CArG-ボックス様配列などが認められる。CEFs, HeLa 細胞、およびマウス骨格筋細胞株である C2C12 細胞における、一連の欠失変異体を用いた CAT アッセイより、転写開始点の上流 -315~-218bp に位置する約 100bp の領域 (GE100) が、CEFs 特異的な強い転写活性の発現にとって不可欠であることが明らかとなった。さらに種々の変異体を用いた詳細な解析により、GE100 の 5' 末端部に存在する CArG-ボックス様配列がエンハンサーエレメントとして機能していると考えられた。しかしながらその活性には、血清刺激に対する反応性は認められなかった。またこのエレメントおよびその変異体をプローブとして用いたゲルシフト解析および UV-架橋法による検索により、このエレメントに配列特異的に結合する、分子量約 70kDa の蛋白質因子の存在することが判明した。

#### 【総括】

本研究において、カルデスモンの平滑筋特異的な強い発現にとって、プロモーター領域内の CArG-ボックス様配

列が重要な働きを行っていることが示唆された。このモチーフは骨格筋特異的な蛋白質の発現調節領域で機能している例が多く見いだされるが、他に平滑筋型 $\alpha$ -アクチンや細胞の接着構造との関連が示されているビンキュリンなどの遺伝子の発現調節領域において機能している例も知られている。カルデスモンの CArG-ボックス様配列はコンセンサスからややはずれるユニークなものであるが、平滑筋における特異性がこのエレメントのみによって規定されるのか否か、またトランス因子との相互作用機構がいかなるものかなど問題は興味深く、解析を続行中である。

#### 論文審査の結果の要旨

本研究は、平滑筋および非筋細胞における収縮制御蛋白質であるカルデスモンの遺伝子発現調節機構を詳細に検討したものである。カルデスモンは、はじめ平滑筋細胞において  $\text{Ca}^{2+}$ -カルモデュリン依存性にアクチン側で収縮を制御する因子として見いだされたが、その後平滑筋のみならず非筋細胞においても同様の機作で収縮制御を行っていると考えられるに至っている。また平滑筋特異的に強く発現するアイソフォームである h-カルデスモンと非筋細胞型の  $\beta$ -カルデスモンが存在すること、そして平滑筋の分化・脱分化と非常に良く対応してこれらのアイソフォームの発現変換が見られることなどから、平滑筋細胞形質転換の最良のマーカーとして注目を集めている。本研究は、こうした平滑筋細胞形質転換の分子的背景を明らかにすることを目的としている。

本研究では、ニワトリ胚繊維芽細胞における強いプロモーター活性が、発現調節領域内の CArG-ボックス様配列のエンハンサーエレメントとしての働きによって調節されていることを明らかにした。そして他の培養細胞における活性比較より、カルデスモンの組織特異的発現においてもこのエレメントが重要な働きを行っていることを示唆した。またこのエレメントと配列特異的に DNA-蛋白質複合体を形成する、約 70kDa の蛋白質因子の存在を明らかにした。

平滑筋特異的な種々の遺伝子の発現調節機構については未だ情報が少ない。本研究で明らかにされたことがらは、それを理解する上でも重要な概念を提示しており、したがって本研究を学位に値するものと認める。