



Title	$\delta$ -1クリスタリン遺伝子の転写調節因子 $\delta$ EF1による細胞種特異的なエンハンサー群の制御
Author(s)	関戸, 良平
Citation	大阪大学, 1995, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/39047">https://hdl.handle.net/11094/39047</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">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> 大阪大学の博士論文について

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

氏名	関戸 良平
博士の専攻分野の名称	博士(理学)
学位記番号	第 11749 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 理学研究科生理学専攻
学位論文名	δ1-クリスタリン遺伝子の転写調節因子δEF1による細胞種特異的なエンハンサー群の制御
論文審査委員	(主査) 教授 近藤 寿人  (副査) 教授 松原 謙一 教授 浅野 朗

### 論文内容の要旨

ニワトリ δ1-クリスタリン遺伝子の水晶体特異的な発現は、エンハンサー内のHN断片によって規定されている。HN断片は、5'前半部の組織非特異的なエンハンサー活性をもつDC17断片と、3'後半部の水晶体特異的なエンハンサー活性をもつDC5断片から構成されている。DC5断片には、抑制因子δEF1と2つの活性化因子δEF2, δEF3の結合部位があり、δEF1の結合部位はδEF3のそれと重なり合っていることが明かとなっている。本研究では、抑制因子δEF1の単離を行ない、HN断片に対する制御機構を解明した。さらに、この因子がδ-クリスタリンだけでなく、様々な細胞種特異的なエンハンサーも制御していることを明らかにした。

HN断片の結合因子をクローニングするため、サウスウエスタン法でニワトリ水晶体cDNAライブラリーのスクリーニングを行ない、δEF1をコードするcDNAを単離することができた。cDNAからδEF1の1次構造を予想すると、N末端とC末端にZnフィンガークラスター、その間にホメオドメインといった3つのDNA結合モチーフを有していた。δEF1の発現は水晶体以外でも確認され、様々な細胞で転写調節因子として機能していることが示唆された。また、cDNAをもとにδEF1遺伝子の単離を行なったところ、9つのエクソンから成ることが明かとなった。

コトランスフェクションによりHN断片に対するδEF1の機能を解析したところ、実際に抑制因子としてはたらくことが明かとなったので、その機能ドメインの決定を行なった。まず、δEF1の3つのDNA結合モチーフの認識配列を検索したところ、ホメオドメインに塩基配列特異的な結合活性はなかったが、N, C両末端のZnフィンガークラスターは共に5'-CACCT-3'を特異的に認識することがわかった。次に、δEF1の様々なドメイン欠失変異体を作製して、抑制に必要なドメインの検索を行なった。その結果、十分な抑制のためには、両末端のZnフィンガークラスターと最もN末端の領域が必要であることが判明した。この結果から2つの抑制機構が存在することが考えられた。1つは活性化因子δEF3との拮抗であり、これには両Znフィンガークラスター存在下での強固な結合が必要とされる。もう1つはN末端領域による抑制であり、これは近傍の活性化因子の働きを抑えるために必要とされる。

δEF1の認識配列5'-CACCT-3'はE2box(CACCTG)と重なり合っていた。B細胞や筋細胞において、E2boxは塩基性領域-ヘリックスーループ-ヘリック(bHLH)構造をもつ活性化因子の結合部位であるとともに、未同定の抑制因子の標的部位として知られている。ゲル移動度シフト法の解析から、E2box上で、bHLH

型活性化因子E47と $\delta$ EF1は拮抗することがわかった。B細胞において $\delta$ EF1を過剰発現させると、免疫グロブリンK鎖遺伝子のエンハンサーはE2boxを介して活性が低下した。また、bHLH型活性化因子MyoDで誘導した10T1/2線維芽細胞において $\delta$ EF1を過剰発現させると、筋型クリアチンキナーゼ遺伝子のエンハンサーがE2boxを介して抑制されたばかりか、筋細胞への分化も阻害された。以上のことから、E2boxに結合する未同定の抑制因子は、 $\delta$ EF1をもって十分に説明されうる。

### 論文審査の結果の要旨

本研究は、水晶体特異的な $\delta$ -クリスタリン・エンハンサーの結合因子 $\delta$ EF1をcDNAとしてクローニングし、その因子が転写抑制因子として、様々な組織特異的なエンハンサーを抑制していることを明らかにした。これまでの組織特異的な遺伝子発現機構の研究では、転写活性化因子がもっぱら注目されてきたが、本研究は、転写抑制因子と活性化因子との拮抗こそが遺伝子発現の特異性をもたらすことを示し、転写制御研究に新しい視点をもたらしたものである。博士（理学）の学位論文として十分に価値あるものと認める。