



Title	水晶体特異的な遺伝子発現制御に関わる複数の転写調節機構の評価 : δ -クリスタリンエンハンサーに対するSOX, Pax, Maf因子群の作用
Author(s)	牟田, 真由美
Citation	大阪大学, 1999, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/41597
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 >大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏 名	牟 田 真 由 美
博士の専攻分野の名称	博 士 (理 学)
学 位 記 番 号	第 1 4 4 1 5 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 11 年 3 月 25 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当 理学研究科生物科学専攻
学 位 論 文 名	水晶体特異的な遺伝子発現制御に関わる複数の転写調節機構の評価： δ-クリスタリンエンハンサーに対する SOX, Pax, Maf 因子群の作用
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 近 藤 寿 人 (副査) 教 授 田 嶋 正 二 教 授 吉 川 和 明

論 文 内 容 の 要 旨

水晶体分化は胚発生の初期に起こり、それに伴ってクリスタリンと総称される蛋白質の合成が始まる。ニワトリにおいては、δ-クリスタリン遺伝子が水晶体分化の最も早い時期に発現される。δ-クリスタリン遺伝子の水晶体特異的な発現は、第 3 インtronにある約 1 kb のエンハンサーによってもたらされる。これまでにニワトリの培養細胞を用いた実験から、エンハンサー内の 120bp の BN 領域、及びその 3' 側 30bp の DC5 と呼ばれる領域が、δ-クリスタリンのエンハンサー活性に必要であり、水晶体特異性を決定すると考えられている。この DC5 の水晶体特異的なエンハンサー活性に必要な転写制御因子として、SOX が同定された。また、SOX と協調して働く因子として δEF3 の存在も示唆されている。

そこで、DC5 に結合する SOX, δEF3 がエンハンサー全長に対してはどのような制御機能を果たすのか、各因子の結合部位に変異を導入した δ-クリスタリンエンハンサー全長を用いて解析を行った。ニワトリ水晶体上皮培養細胞へのトランスフェクション、及び初代トランスジェニックマウスを作成して調べたところ、エンハンサー内の DC5 領域に SOX が結合しなくなると、野生型エンハンサーを用いた場合と比べて水晶体でのレポーター遺伝子の発現が大きく低下することがわかった。δEF3 が結合しない場合、SOX の結合部位に変異を導入した場合ほど水晶体でのレポーター遺伝子の発現に差は見られなかったが、SOX, δEF3 が共に結合しなくなると水晶体での発現はほとんど見られなくなった。このことから、δ-クリスタリンエンハンサーが水晶体特異的な活性を持つには、DC5 に SOX と δEF3 が結合することが必要であることがわかった。

δ-クリスタリンエンハンサーには DC5 以外の BN 領域に、もう一カ所、機能的な SOX の結合部位が存在する。さらに、Pax6 と二カ所の Maf の結合部位が示唆されている。これらの因子の δ-クリスタリンエンハンサーに対する制御機能は、これまで示唆はされていたが明らかにできていなかった。そこで、エンハンサー全長に対するこれらの転写制御因子の機能を、同様に結合部位に変異を入れることにより解析した。

DC5 にある SOX の結合部位と共にもう一つの SOX の結合部位にも変異を入れると、培養細胞へのトランスフェクションでもトランスジェニックマウスでも、水晶体でのレポーター遺伝子の発現がほぼ失われた。つまり、δ-クリスタリンエンハンサーに SOX が二つ結合することが、その活性に重要であることが明らかになった。

Pax6 と Maf の結合部位にそれぞれ変異を導入して培養細胞にトランスフェクションすると、どちらの場合もレポーター遺伝子の発現に大きな差は見られなかった。トランスジェニックマウスを作成して解析を行ったところ、Maf

の二カ所の結合部位に共に変異を入れると、水晶体繊維細胞でのレポーター遺伝子の発現が下がる結果になった。一方、Pax6の結合部位に変異を入れると水晶体上皮細胞での発現が上がった。これらの結果から、Pax6とMafは δ -クリスタリンエンハンサーの水晶体特異的な活性に不可欠なものではないが、Mafは活性因子、Pax6は抑制因子として全体の発現量を調節している可能性が示唆された。

つまり δ -クリスタリンエンハンサーの水晶体特異的な活性には、DC5にSOXと δ EF3が結合することが必要で、もう一つのSOX及びPax6、Mafはエンハンサー全体の活性を制御していると考えられる。

論文審査の結果の要旨

細胞分化の調節機構を理解する上で、細胞分化に特異的な遺伝子発現を制御する転写制御因子が、重要な手がかりを与える。本研究で申請者は、水晶体分化においていち早く発現される δ -クリスタリン遺伝子に着目し、そのエンハンサーに対する転写制御因子、SOX1/2/3、Pax6、Large Mafの作用を解析した。

申請者はまず、 δ -クリスタリン・エンハンサーの中で、各因子が結合する部位を同定した。次に、これら因子の結合部位の各々に突然変異を入れ、培養された水晶体上皮細胞への遺伝子導入とトランスジェニックマウスの作成とを併用して、各突然変異が δ -クリスタリン・エンハンサーの活性に及ぼす効果を分析した。その結果、SOXが δ -クリスタリンの発現の有無を決定すること、また、Pax6は水晶体上皮細胞での δ -クリスタリンの発現を抑制し、Mafは水晶体繊維細胞での発現の促進を行うことを示した。申請者はさらに、これらの転写制御因子の作用の相違が、細胞分化自体の制御、及び分化形質の制御に対応するものであると推論している。

本研究は、細分化に関わる転写制御因子の作用を、現象全体の中で正確に位置づけることに成功したもので、細胞分化の研究における意義は大きい。博士（理学）の学位論文として、十分価値あるものと認める。