



Title	Transcriptional Regulation of the Human Establishment of Cohesion 1 Homolog 2 Gene
Author(s)	西原, 正泰
Citation	大阪大学, 2010, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/58164">https://hdl.handle.net/11094/58164</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

[4]

氏 名	にし 西 原 正 泰
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 24099 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 22 年 4 月 19 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科内科系臨床医学専攻
学 位 論 文 名	Transcriptional regulation of the human establishment of cohesion 1 homolog 2 gene (ヒトESCO2遺伝子の転写調節)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 木村 正 (副査) 教 授 大蔵 恵一 教 授 金田 安史

## 論文内容の要旨

### [ 目的 ]

*ESCO2* (establishment of cohesion 1 homolog 2) は、四肢短縮、頭蓋顔面奇形等を特徴とするRoberts症候群の原因遺伝子である。*ESCO2*のアミノ酸配列は、真核生物種間で保存されており、S期での姉妹染色分体接着に必須とされている。これまで、細胞周期を同調したHeLa細胞でのマイクロアレイ解析から、*ESCO2*はS期特異的に発現する事が分かっているが、その転写調節機構は不明である。

### [ 方法ならびに成績 ]

*ESCO2*プロモーター配列に欠失・変異を加えたレポーター・コンストラクトを用いてルシフェラーゼ・アッセイを行い、転写活性化に必須のシス・エレメントとして、selenocysteine tRNA-activating factor (Staf) binding site (SBS) を同定した。HeLa細胞の核抽出物と特異的抗体を用いたEMSAから、Stafのヒト・ホモログであるZNF143 (zinc finger protein 143) が、SBSに *in vitro* にて結合する事を示した。さらに、Flagタグを付加したZNF143組み換え蛋白質を安定発現する、HeLa細胞株を作成した。抗Flag抗体を用いたChIPアッセイにより、ZNF143が*ESCO2*プロモーターに *in vivo* においても結合する事を示した。

また、ルシフェラーゼ・アッセイにより、SBSの直上に存在するACTACANサブモチーフもまた、*ESCO2*プロモーターの活性化に必要であることを示した。しかしながら、EMSAのコンペティション・アッセイから、ZNF143のSBSへの結合にはACTACANサブモチーフは必須でないことが示唆された。

さらに、ダブル・チミジン・ブロック法、または、チミジン・ノコダゾール・ブロック法にて、HeLa細胞の同調培養を行い、細胞周期依存的な転写調節機構について検討した。リアルタイムRT-PCRを用いて、*ESCO2*のS期特異的な発現を確認した。しかしながら、G1/S期、G2/M期の核抽出物を用いたEMSAでは、共に、ZNF143のSBSへの結合を認めた。その他のシス・エレメントとして、転写開始点付近にCDE/CHR領域が存在し、そのDNA配列は哺乳類種間で保存されていた。ルシフェラーゼ・アッセイから、CHR領域が転写抑制に作用する事が示された。

### [ 総括 ]

SBSは*ESCO2*の重要な転写活性化因子であることが示された。しかし、S期特異的な転写調節機構には関与していないと考えられた。

## 論文審査の結果の要旨

establishment of cohesion 1 homolog 2 (*ESCO2*) は、Roberts症候群の原因遺伝子であり、*ESCO2*蛋白質は姉妹染色分体接着に必須である。これまでに、S期特異的に発現する事が報告されているが、その転写調節機構は明らかでない。

本研究では、selenocysteine tRNA-activating factor (Staf) binding site (SBS) が転写活性化に重要なシス・エレメントであり、zinc finger protein 143 (ZNF143) がSBSに結合する事を示した。しかしながら、G1/S期、G2/M期とともに、ZNF143のSBSへの結合を認めた。

以上から、SBSは*ESCO2*の重要な転写活性化因子であるが、S期特異的な転写調節機構には関与しないことを明らかにした。*ESCO2*の転写調節機構について新たな知見をもたらした申請論文は、学位に値すると考える。