



Title	Sox2遺伝子発現の嗅上皮・内耳プラコード特異性をもたらす、SOX2・パートナー因子による活性化機構と複数の抑制機構
Author(s)	須賀原, 智子
Citation	大阪大学, 2010, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/58508
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、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

【1】

氏 名	須賀 原 智 子
博士の専攻分野の名称	博 士 (理 学)
学 位 記 番 号	第 2 4 1 2 2 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 22 年 6 月 15 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第1項該当 生命機能研究科生命機能専攻
学 位 論 文 名	<i>Sox2</i> 遺伝子発現の嗅上皮・内耳ブラコード特異性をもたらす、SOX2・パートナー因子による活性化機構と複数の抑制機構
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 近藤 寿人 (副査) 教 授 濱田 博司 教 授 八木 健 教 授 山本 亘彦

論 文 内 容 の 要 旨

嗅上皮、内耳、水晶体といった感覚器は、その形態も機能も全く異なるものでありながら、共通の前駆体である前ブラコード頭部外胚葉から生み出される。転写制御因子をコードする*Sox2*遺伝子の発現は、感覚器原基形成の初期にはじまり、感覚器の形成過程を通じて維持されている。*Sox2*遺伝子の発現は複数の異なる制御領域（エンハンサー）によって制御されている。ニワトリ胚では、感覚器形成の初期において*Sox2*遺伝子は、N-4エンハンサーによって感覚器共通の前駆体である頭部外胚葉で広く、しかし弱く発現された後、NOP-1エンハンサーとNOP-2エンハンサーにより嗅上皮ブラコードと内耳ブラコードに対応した領域特異的な強い活性化を受けるとともに、発現領域が限定される。したがってNOP-1エンハンサーとNOP-2エンハンサーを活性化する分子機構を解析することは、感覚器共通の前駆体から各々の感覚器固有の前駆体へと特異化される初期段階の分子機構を解明する手がかりのひとつになると考えた。

本研究では、嗅上皮ブラコードと内耳ブラコードの両方で活性を担っているNOP-1エンハンサーについて解析を進めた。まずNOP-1エンハンサーを欠失させたり変異を導入することにより、NOP-1エンハンサーの制御に関わるエレメントを多数同定した。欠失によりNOP-1エンハンサーの抑制エレメントが除かれると、嗅上皮ブラコードや内耳ブラコードだけでなく、頭部外胚葉の広い領域に活性が広がり、CNSや頭部外胚葉直下の間葉などでも非常に強い活性が現れた。このことからNOP-1エンハンサーの領域特異的な活性には、活性化エレメントの作用と抑制エレメントの作用の双方が必要であることを示した。

NOP-1エンハンサーのSOX結合配列に変異を導入すると、NOP-1エンハンサーの活性が著しく低下した。頭部外胚葉においてSOX2の機能を阻害するとNOP-1エンハンサーの活性が著しく低下した。したがってSOX2がNOP-1エンハンサーの活性化に寄与している可能性が高い。またSOX結合配列のすぐ上流の6 bpのモチーフに変異を導入しても、SOX結合配列に変異を導入した場合と同様の効果が見られた。このことから、SOX2のパートナー因子が6bpのモチーフに結合してSOX2と協調的に作用して、NOP-1エンハンサーを活性化しているのではないかと予想した。6bpのモチーフを伴うSOX結合配列は、NOP-2エンハンサーにも存在している。SOX結合配列と6bpのモチー

フを含む配列を多量体化して、そのエンハンサー活性を調べたところ、活性を持つ領域は*Sall4*を発現している領域とよく似ていた。転写因子SALL4が内耳の形成に関与していることが知られており、SALL4がSOX2のパートナー因子である可能性が高いと考えている。

本研究から、NOP-1エンハンサーによる*Sox2*遺伝子の発現は、パートナー因子の協調的な作用に依存したSOX2の自己制御により促されていること、SALL4がSOX2のパートナー因子である可能性があること、さらにNOP-1エンハンサーの活性化領域の特異性や活性強度の調節には抑制エレメントが極めて重要であることが明らかになった。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究は、感覚器原基の段階的な特異化の過程を、発生プロセスにおける組織の特異化過程の一つのパラダイムとしてとりあげて、その背景にある転写制御システムの解明を目指した。

感覚器の発生の全過程において制御機能を持つ *Sox2* 遺伝子の制御をとりあげ、エンハンサーNOP-1 によって嗅上皮ブラコードと内耳ブラコードの両方で *Sox2* 遺伝子が活性化される段階での、NOP-1 の制御機構（活性化と領域特異化）に注目して研究した。このエンハンサー自体が受ける制御が、感覚器発生の中間段階における転写制御機構を反映しているという期待があった。

NOP-1 エンハンサー全長 334bp に対して、系統的な欠失解析や変位解析を行い、多数の制御エレメントを決定した。そしてこのエンハンサーが、3カ所の主要な活性化エレメントによって活性化されるが、活性化機構だけではブラコード領域へのエンハンサー活性の局在はおこらず、3'側領域に分布する複数の抑制エレメントの効果によってはじめて、エンハンサー活性が嗅上皮ブラコードと内耳ブラコードの2領域に限定されることを示した。抑制機構がエンハンサーの領域特異性を決定する具体例をを明確に示した初めての報告である。

さらに、エンハンサーNOP-1 の活性化エレメントの一つが SOX2 自身とそのパートナー因子（おそらく SALL4）の複合体によって活性化されることを示した。胚発生の同時期に、水晶体ブラコードではエンハンサーN-3 が SOX2 と PAX6 の複合体によって活性化される。このことから、ブラコードの発生においては SOX2 のパートナー因子に依存した *Sox2* 遺伝子の自己活性化が起きることが示され、またそのパートナー因子の選択がブラコードの特異性を与えるというモデルが提示された。

これらの研究成果は、感覚器の発生の制御機構の解明に向けて、重要な新たな知見をもたらしたものであり、学位に値するものと認める。