

氏名(本籍)	しも つま もと し 下 間 志 士 (新潟県)		
学位の種類	博 士 (学 術)		
学位記番号	博 甲 第 5026 号		
学位授与年月日	平成 21 年 3 月 25 日		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当		
審査研究科	生命環境科学研究科		
学位論文題目	Transcriptional Regulation of Human ϵ-Globin Gene in β-Globin Gene Locus (ヒト β グロビン遺伝子座内 ϵ グロビン遺伝子の転写制御)		
主 査	筑波大学教授	農学博士	深 水 昭 吉
副 査	筑波大学教授	農学博士	馬 場 忠
副 査	筑波大学教授	博士(薬学)	柳 澤 純
副 査	筑波大学准教授	博士(農学)	谷 本 啓 司

論 文 の 内 容 の 要 旨

ゲノム上の遺伝子の転写は、同領域の直上に存在するプロモーターによりその開始点と方向が決定され、さらに、プロモーターから離れた位置に存在するエンハンサーにより、転写の量、時期、そして組織の特異性が決定されている。

機能が関連した複数の遺伝子がゲノム上で隣接して存在する領域を遺伝子クラスターと呼ぶが、クラスター内の各遺伝子は、時期・組織特異的に発現することが多い。嗅覚受容体遺伝子群や HOX 遺伝子群に見られるように、これら遺伝子は重複により生じている例が多いため、その発現制御領域の塩基配列は類似している。しかしながら、先に述べたように、その発現様式は各遺伝子間で異なっている。単一の遺伝子クラスター内で、類似した発現制御配列から多様な発現様式を生み出すメカニズムについては未だよく理解されていない。このため、クラスターを形成する遺伝子の転写制御研究が精力的に行われている。

ヒト β グロビン遺伝子座は、エンハンサーやプロモーターの機能解析におけるモデル実験系として用いられてきた。同遺伝子座は 5 つの β 様グロビン遺伝子 (5' 上流から順に ϵ , $G\gamma$, $A\gamma$, δ , β) で構成される。これら遺伝子の上流には遺伝子座制御領域 (LCR) が存在し、共有エンハンサーとして遺伝子座内の全ての遺伝子 (プロモーター) の制御に必須である。LCR は 5 つの DNase I 高感受性領域 (HS) からなり、5' 上流から HS5 ~ HSI と命名された。同遺伝子座をマウス染色体へ導入すると (遺伝子導入マウス, TgM), 初期造血期において、 ϵ , $G\gamma$, $A\gamma$, そして後期造血期において δ , β 遺伝子が主に発現する。

著者の所属する研究室において、ヒト LCR-HS5 がインシュレーター活性を有していることが、酵母人工染色体 (YAC) TgM を用いて証明された。同実験において、LCR の下流に野生型 HS5 DNA 断片を挿入すると、初期造血期における ϵ 遺伝子と、後期造血期における β 遺伝子の両方の発現が抑制された。 ϵ 遺伝子の発現抑制は、インシュレーター活性を持たない変異型 HS5 DNA 断片を挿入した場合にも認められたことから、同表現型は、LCR の下流に HS5 DNA 断片を挿入することにより、インシュレーター活性非依存的にもたらされたことが示唆された。

当該研究は、初期造血期に発現する ϵ 遺伝子特異的な転写制御機構を解析することにより、時期特異的な

発現制御機構を理解することをその目的としている。動物培養細胞と YAC TgM を用いて検証を行った結果、 ϵ 遺伝子の転写活性は、他の β 様グロビン遺伝子とは異なり、LCR エンハンサーとプロモーターとの間の直線距離に感受性を示すことが示された。また、この研究の過程において、HSI 領域内にエンハンサー（HSI-3' エンハンサー）活性を見いだした。同エンハンサーの詳細な機能解析を行った結果、プロモーター特異性を有しないこと、初期造血期特異的に機能することが示された。これらの結果を考えあわせることで、HSI-3' エンハンサーと ϵ プロモーター間の距離が、 ϵ 遺伝子の発現に重要であることが予想された。すなわち当該研究により、 β グロビン遺伝子クラスター内の時期特異的な遺伝子発現制御において、エンハンサーとプロモーターとの間の距離が重要な役割を担う可能性が示された。

審 査 の 結 果 の 要 旨

当該研究において、第二章で見いだした「 ϵ 遺伝子の転写活性は他の β 様グロビン遺伝子とは異なり LCR エンハンサーとプロモーターとの間の直線距離に感受性を示す」という知見は、 β グロビン遺伝子クラスターにおける転写制御の新たなメカニズムの例を示しただけでなく、エンハンサーが距離に依存せずにプロモーターを活性化するという、これまでの一般的なエンハンサーの定義とは異なる例も同時に示したことから、転写制御研究の広い範囲へ貢献したと思われる。また、第三章では、HSI 内に新たなエンハンサー活性を見だし（HSI-3' エンハンサー）、 ϵ 遺伝子の転写活性化には、同エンハンサーと ϵ 遺伝子プロモーターとの間の距離が重要であることが示唆された。この結果は、初期造血期における時期特異的な転写制御機構の解明へつながることが予想され、更なる研究へ発展することが期待される。

以上のように、著者は初期造血期における新規制御機構を明らかにした独創的な研究を行い、かつ、転写制御研究の広い分野に貢献する知見を提供したと判断される。

よって、著者は博士（学術）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。