

氏名(本籍)	かつ 勝  おか 岡  ふみ 史  き 城 (神奈川県)
学位の種類	博 士 (医 学)
学位記番号	博 甲 第 2642 号
学位授与年月日	平成 13 年 3 月 23 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	医学研究科
学位論文題目	One enhancer mediates <i>mafK</i> transcriptional activation in both hematopoietic and cardiac muscle cells (1つのエンハンサーによる <i>mafK</i> 遺伝子の造血細胞と心筋細胞における転写活性化)
主査	筑波大学教授 医学博士 松 井 陽
副査	筑波大学助教授 理学博士 石 井 哲 郎
副査	筑波大学講師 医学博士 宮 内 卓

## 論 文 の 内 容 の 要 旨

### (目的)

小 Maf 群因子である MafK は、普遍的に発現している転写因子として報告されたが、中胚葉系細胞、神経細胞、造血細胞、心筋細胞で特異的な発現をしていることが明らかになった。また、その発現制御機構は、IM エクソンと IN エクソンの 2 つの独立したプロモーターにより制御され、中胚葉での特異的な発現を制御する領域は IM エクソンの上流に、神経細胞での特異的な発現を制御する領域は IN エクソンの上流に存在することが示された。しかしこの領域には、造血細胞と心筋細胞において *mafK* 遺伝子の発現を指令するような活性はみとめられなかった。本研究では、MafK の造血細胞と心筋細胞における発現を制御する未知のエンハンサーの同定と、その活性に重要なシス配列とトランス因子の解析を行った。

### (対象と方法)

マウスゲノムの PI フェージ・ライブラリーをスクリーニングして、*mafK* 遺伝子座を含む独立した 3 クローン単離し、*mafK* 遺伝子座周囲の制限酵素地図を作製した。制御領域を予測する為に、得られた遺伝子座の造血細胞特異的な DNaseI 高感受性 (HS) 部位の同定を試みた。

次に制御領域を含むと予想される遺伝子断片を  $\beta$  ガラクトシダーゼ (LacZ) 遺伝子に結合させたレポーター遺伝子を作製し、まうす受精卵に顕微注入してトランスジェニックマウスを作製した。 $\beta$  ガラクトシダーゼの酵素活性は組織切片状で解析し、レポーター遺伝子発現部位を評価した。

### (結果)

- (1) 赤血球系細胞と線維芽細胞における *mafK* 遺伝子座の DNaseIHS 部位を、IM エクソンと IN エクソンの間の領域と、遺伝子の 3' 下流領域に赤血球特異的な DNaseIHS 部位に同定した。
- (2) 617bp の DNaseIHS 部位を含む領域と IM プロモーター領域が、心臓と造血細胞両組織における *mafK* 遺伝子の特異的な発現を活性化するのに十分であることを示し、この 617bp の領域を Hematopoietic and Cardiac Enhancer of *mafK* (HCEK) と命名した。
- (3) HCEK 活性は胚外中胚葉、卵黄囊の胎児型造血細胞、肝臓での成体型造血細胞、心臓原基に存在した。

- (4) HCEKに4ヶ所存在するGATA配列それぞれに変位を導入しHCEKのエンハンサー活性を解析したところ、上流の2ヶ所のGATA配列が、造血細胞と心臓の両組織での*mafK*遺伝子の発現に必須だった。ゲルシフト解析の結果、この2ヶ所には造血細胞で重要なGATA-1とGATA-2と、心臓で重要なGATA-4とGATA-6がそれぞれ結合した。
- (5) GATA-1遺伝子破壊ES細胞由来の赤血球系細胞においては、野生型ES細胞由来のそれと比して、*mafK*遺伝子の発現が著明に減少していた。

(結論)

造血細胞および心筋における*mafK*遺伝子の発現に必須のエンハンサー(HCEK)を同定した。そのコア配列は2つのGATA配列であり、それぞれの組織において異なるGATA因子が作用していた。

### 審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究は、一つの造血細胞・心筋特異的エンハンサー(HCEK)が複数の組織で働く時に、同じシス配列を利用しているにもかかわらず、そこに作用する転写因子が異なる場合があることを初めて明らかにした画期的なものである。

よって、著者は博士(医学)の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。