

氏 名 (本籍)	加 ^か 藤 ^{とう} 広 ^{こう} 介 ^{すけ} (宮 崎 県)		
学 位 の 種 類	博 士 (医 学)		
学 位 記 番 号	博 甲 第 4493 号		
学位授与年月日	平成 19 年 7 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	人間総合科学研究科		
学 位 論 文 題 目	ヒストン / 酸性分子シャペロン TAF-I によるクロマチンからの転写制御機構		
主 査	筑波大学教授	理学博士	石 井 哲 郎
副 査	筑波大学教授	薬学博士	金 保 安 則
副 査	筑波大学講師	博士 (医学)	福 田 綾
副 査	筑波大学講師	博士 (理学)	三 輪 佳 宏

論 文 の 内 容 の 要 旨

目 的：真核細胞ゲノムはクロマチン構造を形成しており，クロマチンレベルでの転写制御の調節は不明な点が多い。アデノウイルスゲノムからの試験管内複製系の研究で以前本研究室で同定された Template Activatin Factor-I (TAF-1) は，クロマチン構造制御に機能すると考えられるヒストンシャペロン因子群のひとつである。これまで TAF-I を含めヒストンシャペロンの生化学的な解析は詳細に進められてきたが，これら因子が転写制御にどのように関与するかほとんど明らかでない。本研究では，TAF-I によるクロマチン構造の変化と転写制御における役割を明らかにすることを目的とした。

対象と方法：TAF-I は外来遺伝子がゲノムに挿入されたモデル細胞においてその遺伝子発現を正に制御する仕組みについて詳細に解析した。また，TAF-I により発現調節を受ける遺伝子を同定するために，siRNA 法により樹立された TAF-I ノックダウン細胞を用いてマイクロアレイ法によるトランスクリプトーム解析を行った。また，ヒストンアセチル化と TAF-I による協調的なクロマチン制御について，生化学的及び細胞生物学的な解析を行った。さらに，TAF-I による転写制御に遺伝子特異性を決定付ける要因を解明するために，イーストツーハイブリッド法を用いたインタラクトーム解析による TAF-I 相互作用性転写関連因子の探索を行った。

結 果：モデル細胞において，TAF-I はヒストンシャペロン活性依存的にモデル遺伝子の転写を促進したが，モデル遺伝子クロマチンとの相互作用はヒストンシャペロン活性に必須な酸性アミノ酸領域に依存しなかった。ヒストン脱アセチル化酵素阻害剤によりヒストン高アセチル化を誘導するとモデル遺伝子の転写は活性化されるが，TAF-I はヒストンアセチル化状態に非依存的にモデル遺伝子クロマチンと相互作用し，低濃度の阻害剤処理時のみアセチル化と独立にモデル遺伝子を活性化した。低アセチル化及び高アセチル化状態のヒストンを精製して比較検討したが，TAF-I のヒストンシャペロン活性に違いは見られなかった。さらにヒストンの主たる修飾部位であるテイル領域欠損型ヒストンを用いたが，TAF-I のヒストンシャペロン

活性はヒストンテイルに依存しないことが明らかとなった。次に、TAF-I により転写制御される遺伝子候補をトランスクリプトーム解析の発現プロファイルをもとに探索し、*Troponin C, slow* (*cTnC*) などの遺伝子を選択した。

考 察：TAF-I による転写促進活性は、ヒストンシャペロン活性に必須な酸性アミノ酸領域と 2 量体形成能に依存したが、モデル遺伝子との相互作用に酸性アミノ酸領域は必須ではなかった。以上の結果から、TAF-I のクロマチン上への局在は酸性アミノ酸領域とヒストンとの相互作用には依存せず、2 量体構造形成とそれに依存して結合する未同定の因子に依存していると考えられる。アセチル化酵素阻害剤を用いた実験から、TAF-I は基本転写の段階でヒストンアセチル化と独立に転写制御に関わることが示唆された。また精製ヒストンを用いた実験から、TAF-I のヒストンシャペロン活性にはヒストンテイル領域ではなく DNA 相互作用部位であるヒストンフォールドを標的としている可能性が考えられた。この反応機構ではヒストンアセチル化と独立に転写制御に関わるという結果と矛盾しない。トランスクリプトーム解析により、*cTnC* 遺伝子などがヒストンアセチル化に依存しないで TAF-I により転写活性が促進される遺伝子である可能性が示唆された。これまでクロマチンからの遺伝子特異的な転写制御機構は、ATP 依存性クロマチンリモデリング複合体やヒストン修飾酵素について遺伝学的・生化学的を詳細に解析がなされてきた。しかし化学量論的な反応様式が想定される複数のヒストンシャペロン因子について遺伝子特異的な転写制御機構があるかどうか不明であった。本研究において TAF-I が特定の遺伝子の転写制御に関わることが示唆されたことにより、ヒストンシャペロン因子群は遺伝子特異性も併せ持つクロマチン制御因子である可能性が初めて示唆された。

審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究は、真核細胞 DNA のクロマチン構造制御に関与するヒストンシャペロン因子群のひとつである TAF-I についてクロマチンとの相互作用様式について丁寧に解析を行うとともに、TAF-I が特定の遺伝子の転写活性化に関与することを初めて示唆する結果を得た優れた研究である。

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。