

[別紙1]

論文の内容の要旨

Organization and Regulation of the Human Gene for MAZ

論文題目 ヒトMAZ 遺伝子の構造と転写制御

氏名 宋 軍

MAZ(Myc-associated zinc finger protein)はc-myc遺伝子のプロモーターに結合する因子として同定された。その後、MAZは多数の遺伝子の転写制御に関わっていることも分かった。しかし、MAZ 遺伝子のゲノム構造やその転写制御についてまだ不明である。本研究はヒトMAZ 遺伝子のゲノム構造を明らかにし、そしてその転写制御の分子機構を解析した。まずヒトBリンパ球細胞より調整したコスミドライブラリー (cosmid library) をスクリーニングにし、MAZゲノム単離同定し、MAZ をコードする遺伝子のエクソン、イントロンの構成を解析した。ヒトMAZゲノム遺伝子は5'上流のプロモーター、五個のエクソン、四個のイントロン、3'非翻訳領域 (UTR, untranslated region) から成り立っている。すべてのエクソンとイントロンの隣接部はエクソン/イントロン則のGT/AG 則に一致した。ヒトMAZ 遺伝子のmRNAのサイズは 2.7 kbで、60 kDa の蛋白質をエンコードする。蛍光標識法 (FISH, Fluorescent *in situ* hybridization) によってヒトMAZ 遺伝子を染色体の16番のp11.2領域に同定した。ヒトMAZ 遺伝子のプロモーターは典型的なハウス

キーピング遺伝子 (housekeeping gene) の特徴を持っている。即ち、G+C含量が高いこと (88.4%)、CpG ジヌクレオチド (dinucleotide) 配列の頻度が高いこと、TATA box と CAAT box が存在しないこと、S1 ヌクレアーゼ プロテクション アッセイ (S1 nuclease protection assay) によってATG開始コドンの上流の174ヌクレオチド (nt, nucleotide) の領域に多数の転写開始点が存在することを明らかにした。MAZプロモーターの解析 (CAT assay, chloramphenicol acetyltransferase assay) によってMAZ遺伝子のベータプロモーターをnt -383 から +259までの領域に同定した。更にMAZ遺伝子のプロモーターのnt -383 から -334までの領域に対称的なモチーフがMAZ遺伝子の発現に非常に重要であることを発見した。以上の結果より、5'末端配列はヒトMAZ遺伝子の発現をコントロールする領域を含むプロモーターであることが判明した。

転写因子Sp1と MAZはジンクフィンガーを有し、DNAに結合することによって標的遺伝子の発現を正と負に調節する。Sp1はGGGCGG という配列に、MAZはGGGAGGGという塩基配列に結合する。本研究はSp1と MAZがMAZ遺伝子のプロモーターの同一のシスエレメント(cis-element)に結合すること、両者はDNA結合エレメントを共用していることも判明した。Sp1と MAZは同一エレメントのDNA結合を介してMAZ遺伝子自身の発現を抑制することも判明した。Sp1と MAZはそれぞれ3個と6個のジンクフィンガーを有しているが、どのジンクフィンガーがDNAと結合に大切かまだ不明である。本研究では、隣接する二つのジンクフィンガーがDNA結合に重要であることを明らかにした。即ち、Sp1は2番と3番のジンクフィンガーが、MAZは3番と4番のジンクフィンガーがDNA結合に非常に必須である。

プロモーター解析の結果、ヒトMAZ遺伝子はSp1によって抑制され、MAZ自身によっても自己抑制される。Sp1による抑制と、MAZの自己抑制は各々独立の現象であることも明かとなった。MAZの自己抑制には、主としてヒストン脱アセチル化酵素 (HDACs, Histone deacetylases) が関与し、MAZはHDACをリクルートして、プロモーターの活性を抑制するモデルが考えられる。一方、Sp1の場合はおもにDNAメチル転移酵素1 (DNMT1, DNA methyltransferase 1) が関与し、Sp1はDNMT1をリクルートして、MAZプ

ロモーターの活性を抑制すると考えられる。以上により、プロモーター上の同一のシスー
エレメントに結合できる転写因子が各々、別々のヒストン或いはDNAの修飾因子群をリ
クルートすることによって、ヒストンの脱アセル化や、DNAのメチル化を介して同じ遺
伝子の発現抑制に関与していることが推定された。