

審査の結果の要旨

氏名 佐相 薫葉子

本論文は、真核細胞の転写伸長因子 S-II と相互作用する転写因子 FESTA に関する分子生物学的研究の成果を述べたものである。真核細胞においてメッセンジャーRNA の前駆体は、RNA ポリメラーゼ II により合成される。この酵素の活性調節は、真核細胞の発生・分化を理解する上できわめて重要である。S-II は、当初マウスの腹水ガン細胞において、RNA ポリメラーゼ II の活性を促進するタンパク質として同定され、精製された。マウスには、すべての臓器に発現する S-II のほかに、精母細胞特異的に発現する SII-T1 と、腎臓・肝臓で発現する SII-K1 というサブタイプが存在する。申請者は、これらの S-II サブタイプの間で相同性が低い、N 末端側の領域が組織特異的な転写因子との相互作用であると考え、イースト 2 ハイブリッド法により検索した。その結果、申請者は、自らが FESTA と命名した新規転写因子を発見した。

EST クローンデータベースを検索することにより、申請者は、FESTA には、FESTA-L と FESTA-S という 2 つのサブタイプが存在することを明らかにした。さらに、申請者は、Northern ブロット解析により、FESTA は腎臓及び脾臓において異なるサイズの RNA として発現されていることを明らかにした。

さらに申請者は、FESTA のいろいろな部分欠損変異体を分子生物学的手法を駆使して作成し、S-II との結合の有無を解析した。その結果、FESTA の C 末端領域が S-II との結合に必要であることが明らかになった。さらに申請者は、FESTA が転写因子であるか否かを、FESTA と GAL4DNA 結合ドメインとの融合蛋白について、GAL4 結合配列を転写制御領域にもつルシフェラーゼ遺伝子によるレポーターアッセイを実施した。その結果、レポーター遺伝子のベクターと FESTA-GAL4 融合蛋白発現ベクターの両者を NIH3T3 細胞に導入した場合、GAL4 の DNA 結合ドメインだけを発現する空ベクターを導入した場合に比べ、約 20 倍までルシフェラーゼの活性が上昇することが判明した。また、GAL4 の結合配列を除いたレポーター遺伝子を導入した場合には、ルシフェラーゼ活性の上昇は見られなかった。これらの結果は、FESTA が転写活性化因子として細胞内で機能することを示唆している。さらに申請者は、FESTA の転写活性化ドメインを同定するため、いろいろな FESTA の部分欠損変異体を分子生物学的手法により構築し、それらの転写活性化能を比較した。その結果、FESTA の C 末端領域が、転写活性化に重要な役割を果たしていることを明らかにした。

次に申請者は、野生型 ES 細胞および、S-II 遺伝子欠損 ES 細胞に、GAL4 融合

FESTA の発現ベクターとレポーターベクターを同時に導入し、ルシフェラーゼアッセイを行った。その結果 S-II 遺伝子欠損 ES 細胞においては、FESTA の転写活性化能が低下することを示唆する結果を得た。

申請者の研究は、腎臓と脾臓において発現する、転写伸長因子 S-II と相互作用する新規の転写因子、FESTA を発見し、その性質を検討した。この研究は、転写制御の解明に貢献するものであり、分子生物学、生物系薬学の発展に寄与するところが大きい。そこで、本審査委員会においては、申請者が博士（薬学）の称号を授与されるにふさわしいと判定した。