

[ 別紙 2 ]

審査の結果の要旨

氏名 恩田 美雪

本研究は近年のゲノム解析の進展によって発見された多くの機能未知遺伝子の機能を解明することを目標として、そのための有効な手段であると考えられる遺伝子制御ネットワークを明らかにする一般性の高いアプローチを確立することを試みたものである。出芽酵母をモデルに実験を行い、下記の結果を得ている。

1. 出芽酵母に最も多いタイプの転写因子である Zn2Cy6 型 zinc finger 転写因子について DNA 結合ドメインの C 末端側に二量体化を促進するドメインと VP16 転写活性化ドメインとを結合させて恒常的活性化型のキメラ転写因子を作成する戦略をたて、そのためのカセットを作成した。
2. Galactose 代謝を制御する転写因子 Gal4 について、相同組替えてゲノム上にキメラ転写因子を構築した。RT-PCR 法による Gal4 の代表的標的遺伝子の発現の検討から、Gal4 キメラ転写因子は Galactose という転写活性化シグナル非存在下で既知標的遺伝子を活性化できることを確認した。
3. 酵母の多剤耐性を制御する転写因子 Pdr1 についても同様にキメラ転写因子を作成し、RT-PCR 法とマイクロアレイによる解析から既知標的遺伝子を機能獲得型変異体と同様に誘導できることを確認し、この戦略の有効性を確認した。
4. Pdr1 のホモログで共通の下流標的遺伝子を持つことが知られていた Pdr3 をキメラ化により活性化し、マイクロアレイにより下流標的遺伝子候補群を網羅的に同定した。その結果、Pdr1 と Pdr3 は多くの下流標的遺伝子を共有していることが示唆された。
5. 薬剤耐性への関与が示唆されている新規転写因子 Yrr1 とその family の転写因子の 4 つについてキメラ転写因子を作成し、マイクロアレイを用いて標的遺伝子候補群を網羅的に同定した。下流標的遺伝子群のオーバーラップは転写因子の系統樹に相関することが示されたが、これは単一起源の転写因子からの機能分化を示すものと思われた。Yrr1 と Pdr1 の family の標的遺伝子候補

の比較から、両者が多剤耐性の獲得に寄与する機構の差異が示唆された。

6. Pdr3 キメラで発現が誘導され、Pdr1 キメラで誘導されない遺伝子の多くが NaCl 耐性に関与する可能性が示唆され、実際に  $\Delta pdr3$  が NaCl 感受性であることを示した。これにより、転写因子のキメラ化というアプローチが機能未知転写因子の標的遺伝子群の同定に有効であるとともに、転写因子間での機能分化を探る有望な方法になりうることを示した。

以上、本論文は出芽酵母において転写因子のキメラ化という戦略をたて、その有効性を機能既知の転写因子をモデルに確認した。さらに、機能未知の転写因子にこの戦略を応用し、今まで知られていなかった新規の標的遺伝子候補群を網羅的に同定した。また、Pdr3 の独自の標的遺伝子群の解析から Pdr3 が NaCl 耐性に関与するというこれまで全く知られていなかった機能を明らかにした。以上よりこの戦略は機能未知転写因子の標的遺伝子群の同定に有効であるとともに、転写因子間での機能分化を探る有望な方法になり得る一般性の高いアプローチであることが示された。本研究は転写制御ネットワークの解明に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。