

## 審査の結果の要旨

氏名 中田 章仁

転写伸長因子 S-II は転写反応を中断した RNA ポリメラーゼ II が転写伸長反応を再開するのを助けるはたらきを有しており、哺乳類には全身に発現するタイプの他に組織特異的に発現する 2 つのタイプが存在することが明らかになっている。「脳・精巣特異的転写伸長因子 SII-T1 の機能解析」と題する本論文では、組織特異的 S-II のひとつである SII-T1 の生体内機能を明らかにするために、SII-T1 遺伝子ノックアウトマウスの樹立とその妊性に関する解析、および SII-T1 と相互作用するタンパク質として PDZ タンパク質 GRIP1 の新規アイソフォーム GRIP1 の単離・同定を行なっている。さらに、GRIP1 が哺乳類細胞内で転写活性化因子として機能することを示唆し、SII-T1 と GRIP1 の協調的転写制御機構の存在について考察している。

### 1 . SII-T1 遺伝子ノックアウトマウスの樹立と解析

申請者は精子形成における SII-T1 の役割を個体レベルで明らかにするために、SII-T1 遺伝子ノックアウトマウスの作出を行なった。その結果、SII-T1 遺伝子ノックアウトマウスは生存し、通常の条件下での生殖能力に異常を示さないことが明らかにされた。

### 2 . SII-T1 との相互作用タンパク質としての GRIP1 の単離・同定

次に申請者は精巣において SII-T1 が機能する分子メカニズムに着目し、SII-T1 の生体内機能の解析を行なうことにした。酵母の two-hybrid system によって、マウス精巣から SII-T1 と相互作用するタンパク質を探索した結果、PDZ タンパク質 GRIP1 の一部の領域をコードするクローンを単離した。申請者が単離した GRIP1 クローンは、これまでに報告されていた GRIP1 よりも短い 632 アミノ酸からなるタンパク質をコードするものであり、マウスにおけるその発現組織について調べた結果、精巣特異的であると考えられた。申請者はこれを GRIP1 と名づけた。さらに、哺乳類細胞内における SII-T1 と GRIP1 の相互作用について、COS7 細

胞の共発現系を用いた免疫沈降法によって確認した。GRIP1 が転写伸長因子 SII-T1 と相互作用することから，GRIP1 が転写に関与する可能性が示唆された。

### 3．SII-T1 の脳における発現

GRIP1 が脳において重要な役割を果たしていると報告されていることから，申請者は SII-T1 が脳においても発現している可能性を考えた。抗マウス SII-T1 抗体を作製し，これを用いて，上記の可能性について調べた結果，SII-T1 が精巣だけでなく，脳（大脳・小脳）にも発現していることを見出した。

### 4．GRIP1 の転写因子としての機能解析

GRIP1 自身が転写因子として機能するか否かについて調べる目的で，GAL4 DNA Binding Domain(GAL4DBD)と GRIP1 の融合タンパク質の発現ベクター，および GAL4 結合配列の下流にルシフェラーゼ遺伝子をつないだレポーターベクターをマウス胎児繊維芽細胞株に導入し，レポーター活性を測定した。その結果，GAL4DBD-GRIP1 ベクター依存にレポーター活性が約 14 倍上昇することが判明した。すなわち，GRIP1 が哺乳類細胞内で転写活性化因子として機能することが示唆された。さらに，GRIP1 の転写活性化に対する SII-T1 の影響について調べる目的で，上記のレポーターアッセイ系に SII-T1 発現ベクターを導入した。その結果，SII-T1 発現ベクターの導入に依存したレポーター活性の増大または抑制が検出された。以上の結果は，SII-T1 が GRIP1 による転写活性化を正あるいは負に調節する可能性を示唆している。

以上を要約するに，申請者は SII-T1 遺伝子ノックアウトマウスを樹立し，それが通常の飼育条件下では，生存，生殖能力に異常を示さないことを明らかにした。また，SII-T1 と相互作用するタンパク質として PDZ タンパク質 GRIP1 の精巣特異的新規アイソフォーム GRIP1 を単離・同定し，GRIP1 が転写活性化因子として機能すること，SII-T1 がその転写活性化に影響を与えることを示唆した。さらに，SII-T1 が脳にも発現していることを新たに見出した。これらの研究結果は，SII-T1 の新しい生理機能を解明する上で，重要な知見を与えるものであり，博士（薬学）の学位として十分な価値があるものと認められる。