

## 論文審査の結果の要旨

申請者氏名                      沢津橋 俊

真核生物 DNA は核内でクロマチンとして存在する。そのため染色体 DNA からの遺伝子発現制御は、ヒストン修飾やクロマチン構造調節を介することが明らかにされつつある。しかしながら、これまでの研究はヒストンやヌクレオソームレベルでの転写制御機構に関するものが多く、生体内で見られる高次のクロマチン構造を介した転写制御の分子機構の解明には至っていない。本研究はショウジョウバエにおいて核内受容体エクダイソンレセプター(EcR)に着目し、エクダイソン依存的なパフ形成を“転写活性化に伴うクロマチン高次構造変換”として捉えたモデル系として用い、クロマチン構造変換を担う転写共役因子の分子遺伝学的な同定を試みている。更に同定された新規因子によるクロマチン構造調節を介した転写活性化制御機構の解明を試みている。

第一章は序論である。第二章ではパフ形成時にショウジョウバエポリ(ADP)リボシル化酵素(dPARP)が一過的にパフ領域をポリ(ADP)リボシル化修飾すること、またパフ形成に必須であることに着目し、dPARP が EcR 転写活性化に関与する可能性を検討している。その結果、dPARP は発現量依存的に EcR のリガンド依存的な転写活性化を促進すること、dPARP と EcR はリガンド依存的に会合することから、dPARP は EcR の新規転写共役活性化因子として機能すること示した。これにより、パフ形成に関わる dPARP は、EcR の転写共役因子複合体の一員として染色体構造調節をする可能性を示したものである。

第三章ではエクダイソン誘引性パフに局在化する因子の新規探索系の確立と転写活性化に伴うクロマチン構造変換に働く新たな因子の取得を試みている。エクダイソン誘引性パフで局在する因子を染色体欠失変異体ハエラインを用い分子遺伝学的にスクリーニングした結果、CG5935(dDEK)を同定した。この因子は、新規 EcR 転写活性化因子として機能する事を示した。

第四章ではこの新規 EcR 転写活性化因子 dDEK の性状解析を試みている。EcR の転写制御に対して dDEK によるクロマチン構造変換を介した転写制御の可能性を検討している。そこで、培養細胞・ショウジョウバエ個体を使ったレポーター解析、リコンビナント dDEK タンパク質を用いた in vitro 解析、in vivo での過剰発現系・ノックダウン系による表現型解析等を中心に機能解析を試みている。レポーター解析の結果、dDEK は EcR のリガンド依存的な転写活性化に寄与することが示された。また、多糸染色体免疫染色の結果、dDEK はパフ領域で EcR と共同在を示した。さらに、クロマチン画分からリコンビナント dDEK に対する相互作用因子の精製を試みたところ、多量のコアヒストンが検出された。このコアヒストンの翻訳後修飾にはクロマチンの不活性化状態の指標である H3K9、K27 のメチル化

は検出されず、活性化状態の指標である H3K4 のメチル化が亢進していた。更に dDEK は in vitro でヒストンシャペロン様の活性を有することを見出したことから、dDEK はクロマチン構造の活性化に寄与するものと考えられた。また、ハエ個体での遺伝学的解析から、dDEK 遺伝子はショウジョウバエの斑入り位置効果を増強する変異遺伝子群である Enhancer of variegation(E(var))に分類されることが見出された。これら dDEK の性状解析から、核内受容体の転写制御機構にはヒストンシャペロン様活性による ATP 非依存性クロマチンリモデリングといった新たな制御段階が存在する可能性を示している。

本論文は核内受容体の転写制御機構をモデル系とし、クロマチン構造の弛緩による転写活性化制御を担う新たな共役因子を同定することに成功している。これらの成果は、従来不明であった生体内での高次クロマチン構造調節を介した転写制御分子機構の一端を明らかにするものである。よって審査委員一同は本論文が博士（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。