

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 吉村 公宏

染色体上のDNAはクロマチン構造を取って存在する。そのため真核細胞遺伝子の発現制御には、クロマチン構造調節が必須である。これら構造調節を担うクロマチンリモデリング複合体群は、ATP依存的にクロマチンを弛緩させることで、標的遺伝子近傍のDNAを露出させ、転写因子のDNA結合を促すと考えられている。本研究ではクロマチンリモデリング複合体に属するWINAC (WSTF including nucleosome assembly complex) 複合体の主要構成因子である *WSTF* 遺伝子欠損マウスを作成、その変異の詳細な解析により、時期組織特異的なクロマチンリモデリング複合体の生体内高次機能の解明を試みている。また、*WSTF* は先天性遺伝疾患Williams syndrome (WS) の原因候補遺伝子の一つであるため、この疾患におけるWSTF機能変異についても解明を試みている。

第1章の序論に引き続き、2章ではジーンターゲティング法を用いて、マウスES細胞株の *WSTF* 遺伝子を組み換え、*WSTF* 遺伝子欠損マウス作成を試みている。具体的には、エレクトロポレーション法による遺伝子導入、サザンブロット法による相同組み替え体の同定、アグリゲーション法によるキメラマウスの作製を行っている。その結果、生殖系列に組換えを起こしたキメラ個体を得、このキメラ個体から *WSTF*^{+/+}マウス・*WSTF*^{-/-}マウスを得ている。作出された *WSTF*^{-/-}マウスは生後まもなく致死となることが判明し、WSTFが個体の生存に必須であることを示すものであった。

第3章では、死因として想定される新生児心臓を組織学的に検討し、さらに胎生期における心臓発生および神経堤細胞のマーカー遺伝子と、それら遺伝子の発現を制御する転写因子群の発現を WISH 法にて検討している。その結果、致死の要因として胎生期における心臓及び心大血管の形成異常が寄与することを示唆した。また WSTF は心臓形成においては *Nkx2.5*・*Tbx5*・*Gata4*、心大血管形成においては *Ets-1*・*Gata2* 等の器官形成必須転写因子機能を支持しており、結果として最下流の標的遺伝子である *Cx40* と *Ece1* を組織特異的に制御していることを明らかにしている。更に WSTF 欠損は心臓神経堤細胞機能にも影響を与えることを見いだしている。このように WSTF は Cell lineage の異なる2種の細胞譜系を制御することで正常な心臓形成を促していると考えている。また、*WSTF* 欠損マウ

スではWSで発症する心血管奇形を呈したことから、*WSTF*はWSにおける心臓疾患の主要遺伝子であることを示した。

第4章では、心臓形成と神経堤細胞において発現低下が見られた遺伝子群の*WSTF*による転写調節機構をレポーターアッセイ法、免疫沈降法、*in vivo*クロマチン免疫沈降法(ChIP assay)を用いて分子レベルで詳細に解析している。その結果、*WSTF*はWINAC複合体を特異的な転写因子とともに標的遺伝子プロモーター上にリクルートすることで、転写調節を共役することを明らかにしている。

本論文は*WSTF*遺伝子欠損マウスの作出により、時期組織特異的なクロマチンリモデリングを介した転写調節の分子機構の一端を解明し、更にWSの疾患の分子基盤を明らかにするものであった。今後、同様のアプローチによりクロマチンリモデリング複合体群の多様な生体内高次機能の解明やクロマチンDNA上での細胞核内生物現象の理解に大きく貢献するものと期待される。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。