

[ 別紙 2 ]

## 論文審査の結果の要旨

申請者氏名 伊藤 紗弥

高等真核生物の染色体におけるクロマチンと呼ばれる DNA の高次構造は、転写を介して遺伝情報を正確に発現する上で重要な働きを担っている。クロマチン構造状態は転写反応の促進しているユークロマチン状態と転写反応が抑制されたヘテロクロマチン状態の二つに大別することができ、この二つの状態を変換することで転写を制御すると考えられている。しかしながら、これまでクロマチン構造変換と転写の二つの現象を繋ぐ断定的な報告はなく、転写制御における詳細な機構は不明であった。本研究は、クロマチン構造調節因子と転写共役因子を繋ぐ新しいクラスの転写共役因子の同定及び機能解析により、クロマチン構造変換に連動した転写制御機構の解明を試みている。

第一章の序論に引き続き、第二章ではショウジョウバエを用いて、新規転写共役因子の遺伝学的同定を試みている。具体的には、本研究室で構築したヒトアンドロゲンレセプター転写制御系を用い、遺伝子変異ショウジョウバエ系統における転写活性強度を指標に新規転写共役因子を探索した。その結果、顕著な転写抑制を担う機能未知因子 BAHD1 を同定した。また、ショウジョウバエ PEV 解析により、BAHD1 はヘテロクロマチン化を担うことが示唆された。従って、BAHD1 がクロマチン構造調節能と転写制御能を併せ持つ因子であることが示された。

第三章では、BAHD1 の生理学的意義を解明するため、ノザンプロット法を用いて BAHD1 mRNA の発現組織を検討している。その結果、BAHD1 はヒト副腎皮質で顕著に発現することを明らかにした。また、副腎皮質由来 Y1 細胞におけるコロニーフォーメーションアッセイにより、BAHD1 の機能の一つは副腎における細胞増殖であることを示した。

さらに、Y1 細胞を用いた RT-PCR 法により BAHD1 が副腎の発生・分化制御を担う転写因子 SF-1 や DAX-1 の発現を抑制することを示唆した。従って、BAHD1 は副腎における細胞増殖及び発生段階においては分化抑制制御を担うことが推測された。

第四章では、BAHD1 の転写制御能及びクロマチン構造調節能を分子レベルで詳細に解析している。第一に、レポーターアッセイ法により BAHD1 が SF-1 及び AR の転写を抑制することを見出した。第二に、細胞免疫染色法により BAHD1 がジメチル化ヒストン H3K9 領域特異的に局在することが示され、この領域でクロマチン構造調節に関わることが知られている HP1 、Suv39H1 さらに Brg1 が BAHD1 を相互作用することを免疫沈降法により示唆した。さらに、BAHD1 複合体がクロマチン構造変換能を有することを *In vitro* MNase assay により証明した。

本論文は転写活性を指標とした遺伝学的アプローチを用いることで、クロマチン構造変換を伴う新しいクラスの核内レセプター転写共役因子の同定に成功した。本研究は、クロマチン構造変換因子群による核内レセプター転写制御機構への関与を解明した新たな試みであり、生体内での時期・組織特異的な転写制御における染色体構造変換機構の理解に繋がるものであると期待される。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。