

# 論文審査の結果の要旨

氏名 石坂 彩

本論文は8章からなる。第1章および2章には、それぞれ要旨と略語が記されている。第3章はイントロダクションであり、クロマチン構造変換因子 SWI/SNF 複合体の機能と転写因子 NF- $\kappa$ B の活性化機構である古典経路や非古典経路および d4 ファミリータンパク質の構造などの研究背景が記されている。さらに、NF- $\kappa$ B RelB/p52 ヘテロダイマーと SWI/SNF 複合体を仲介するアダプターとして d4 ファミリーに属する DPF2 を同定した論文提出者の属する研究室から発表された先行研究を紹介し、本研究の目的を d4 ファミリータンパク質を候補として SWI/SNF 複合体と RelA/p50 の新規 coactivator を同定することであると述べている。

第4章の実験結果は6部構成となっており、第1部および第2部では NF- $\kappa$ B 特に RelA/p50 ヘテロダイマーの SWI/SNF 複合体依存的な転写活性化における d4 ファミリータンパク質の coactivator としての活性をレポーターアッセイにより解析を行っている。Coactivator 候補の各因子の過剰発現および shRNA による発現抑制の両方の側面から解析を行った結果、全ての d4 ファミリータンパク質に RelA/p50 の SWI/SNF 複合体依存的な標的プロモーターの活性化を強める coactivator としての活性を認めたが、その活性が最も強い候補因子として DPF3a, DPF3b を見出している。第3部および第4部は DPF3a, DPF3b と SWI/SNF 複合体や RelA/p50 の結合解析を行い、その結果を述べている。第3部では DPF3a および DPF3b が SWI/SNF 複合体の構成サブユニットや RelA/p50 と直接的な結合性を持つことを *in vitro* の結合解析から示している。第4部では DPF3a, DPF3b は核内で SWI/SNF 複合体と定常状態から結合しており、RelA/p50 とは TNF- $\alpha$  刺激によって RelA/p50 が核移行した際に相互作用することを免疫沈降法により示している。第5部および第6部ではクロマチン免疫沈降法により標的プロモーター上への TNF- $\alpha$  刺激をおこなった際の RelA/p50、SWI/SNF 複合体および DPF3a/b の動員についての解析を行っている。HIV-1 野生型 LTR への RelA の動員の kinetics と初期転写産物の産生の kinetics の比較を行った結果、両者はよく一致しており、転写開始にあたって直接的な引き金となるのは RelA/p50 の動員であると考えられる。一方で DPF3 と SWI/SNF 複合体は標的プロモーター領域へあらかじめ動員されているが、その機構を説明するひとつとして、DPF3 が p50 ホモダイマーを認識して

SWI/SNF 複合体を誘導している可能性が考えられる。

第 5 章では、第 4 章に記された結果に対する総合的な考察がなされている。第 6 章、7 章および 8 章には、それぞれ本論文で用いた実験手法、謝辞および引用文献の目録が記されている。

以上の解析を通じて、論文申請者は DPF3a および DPF3b が SWI/SNF 複合体と RelA/p50 を仲介する coactivator であることを見出した。NF- $\kappa$ B の標的遺伝子のプロモーターには、NF- $\kappa$ B に応答する際に近傍のクロマチン構造変換を必要とするものとしがないものがあると考えられているが、HIV-1 LTR のようなクロマチン構造変換を要求する標的遺伝子のプロモーターの転写亢進には SWI/SNF 複合体と NF- $\kappa$ B を仲介する DPF3a および DPF3b が重要な機能を担っていることが明らかになった。

既存の研究で、DPF3 が神経や筋肉の発生に関与していることが報告されているが、この先行研究では DPF3 の単独の機能としてこうした生命現象への関与を報告している。それに対して本研究では DPF3 が NF- $\kappa$ B と相互作用することを見出しており、SWI/SNF 複合体を NF- $\kappa$ B の応答配列をもつプロモーターへ動員する因子として着目している。d4 ファミリータンパク質を coactivator として使い分けることで NF- $\kappa$ B による標的遺伝子の発現制御に選択性が生まれるのではないかという着想は、本研究の独自の概念である。

なお、本論文の主要部分は伊庭英夫、水谷壮利、藤原俊伸、小林和善、丹藤利夫、櫻井浩平との共同研究であるが、論文提供者が主体となって解析及び検証を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

したがって、博士（理学）の学位を授与できると認める。