

論文内容の要旨

申請者氏名 大館 秀純

1999 年に新潟大の堀米研究室でラットの核抽出液から WGA(wheat germ agglutinin)結合タンパク質として p50 が単離精製された。p50 はほぼ同時期に千葉大の田村らにより TBP-interacting protein として単離精製された TIP49a と同一であり、堀米研究室と当研究室との共同研究により出芽酵母に非常に相同性の高い *TIH1/RVB1* と *TIH2/RVB2* の 2 つの遺伝子が存在することが明らかとなった。本研究は、酵母からヒトまで進化的に保存されている *TIH* (TIP49 homologue) 遺伝子の多彩な生理機能を、遺伝学が有効に利用できる出芽酵母を用いることにより分子レベルで明らかにすることを目的として行った。

まず最初に *TIH* 遺伝子の基本的な解析を行い、以下の 5 点を明らかにした。(E) *TIH2* 遺伝子が細胞増殖に必須な遺伝子である、(F)主に核に局在している、(G)*Tih2p* は *in vivo* で *Tih1p* と複合体を形成している、(H)*TIH2* 遺伝子の温度感受性変異株である *tih2-ts160* 株を用いた解析から特定の遺伝子の転写に関与している、(I)*tih2-ts160* 株は制限温度下で速やかに細胞増殖期の G1 期で増殖が停止し、*Tih2p* が細胞周期の進行に重要な分子である。

これらの結果から、さらに、*Tih1p* と *Tih2p* の特定遺伝子に対する転写調節への関与を主に *TIH2* 遺伝子の温度感受性変異株 *tih2-ts160* 株を利用して詳細に解析した。その結果、*Tih1p*、*Tih2p* それぞれの TBP との *in vivo* での相互作用や、*in vitro* での直接結合が明らかになった。次に *tih2-ts160* と様々な機能欠陥を示す *tbp* 変異遺伝子との二重変異による合成致死性について調べた結果、*tih2-ts160* は、TBP の自発的な TATA-box への結合とリクルート過程に異常がある *tbp* 変異とアレル特異的な条件致死を示すことを見出した。さらに *Tih2p* の標的遺伝子群を詳細に明らかにする目的で、出芽酵母全遺伝子に対する DNA マイクロアレイを行なった。その結果、興味深いことに *tih2-ts160* 株で転写抑制を受ける遺伝子の中にリン酸代謝に関わる遺伝子群が含まれており、これらの遺伝子群は *ino80* 欠損株でも同様の傾向を示した。一方、転写促進を受ける遺伝子は、*ino80* 欠損株とは全く異なる結果であった。さらに特筆すべきことは、*TIH2* とアレル特異的な遺伝学的相互作用を示した *tbp* 変異株においても、転写抑制遺伝子群に関し *tih2-ts160* と同様な結果を得たことである。

以上の結果より、*Tih1p* と *Tih2p* は細胞内で会合体を形成し、それぞれが細胞の増殖にとって必須であり、TBP を含む基本転写因子群との相互作用により、標的遺伝子への TBP のリクルート過程において重要な働きをして、その標的遺伝子群の転写調節に深く関与する新規の分子複合体であることが明らかとなった。

論文審査結果の要旨

申請者氏名 大舘 秀純

出芽酵母 Tih1、Tih2 は、動物細胞由来の核タンパク質として取得された p50, p47 のオルソログに相当するタンパク質であるが、TBP(TATA box binding protein)と相互作用するタンパク質であるという以外、その生理機能に関しては全く未知であった。本研究は、真核生物に進化的に保存され互いに高い相同性をもっている Tih1、Tih2 タンパク質について、遺伝学的手法を導入できる出芽酵母を用いて解析し、その生理機能を明らかにしたものである。

本論文は二章から構成されており、第一章は *TIH* 遺伝子の基本的な機能解析を行ったものであり、第二章は転写調節における *TIH* 遺伝子の機能について、より詳細に解析したものである。まず基本的な解析から以下の5点を明らかにした。①遺伝子破壊の実験から、両タンパク質は互いに40%という高い相同性をたもちながらそれぞれが細胞増殖に必須の遺伝子である、②両タンパク質に保存されている ATP 結合モチーフは機能に必須である、③この両タンパク質は *in vivo* で複合体を形成している、④Tih2 の温度感受性変異株を用いた解析から、Tih2 は特定の遺伝子の転写調節に関与している、⑤細胞周期の進行に重要な機能をになっている。第二章では一章の結果をふまえ、特定の遺伝子への転写調節に関する解析を押し進めている。まず Tih1 と Tih2 とは互いに複合体を形成するだけでなく TBP と直接結合する活性をもっていること、Tih2 の温度感受性変異株は、TBP の TATAbox への結合とリクルート過程に機能欠陥を示す株との間にアレル特異的な合成致死を示すことを明らかにした。さらに、Tih2 の標的遺伝子を明らかにする目的で出芽酵母全遺伝子に対するマイクロアレイを行い、転写抑制を受ける遺伝子 20、転写促進を受ける遺伝子 14 を同定した。これらの結果より、Tih1 と Tih2 は互いに40%という高い相同性を保ちながら細胞内で会合体を形成し、それぞれが細胞の増殖にとって必須であり、TBP を含む基本転写因子群との相互作用を通してその標的遺伝子群の転写調節に深く関与する新規の分子複合体であることが明らかとなった。

以上のように、本研究は真核生物に進化的に保存されている *TIH1*、*TIH2* 遺伝子が、特定遺伝子群の転写制御に重要な役割をしていることを初めて明らかにしたものであり、学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって審査委員一同は、本論文が博士（バイオサイエンス）の学位論文として価値あるものと認めた。