T2R2 東京工業大学リサーチリポジトリ
Tokyo Tech Research Repository

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	ゼブラフィッシュコネキシンcx36.7の心筋特異的な遺伝子発現調節機構の解析
Title(English)	
著者(和文)	宮城央子
Author(English)	Hisako Miyagi
出典(和文)	学位:博士（理学）, 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第10086号, 授与年月日:2016年3月26日, 学位の種別:課程博士, 審査員:中村 信大,太田 啓之,田中 幹子,中戸川 仁,梶川 正樹
Citation(English)	Degree:, Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第10086号, Conferred date:2016/3/26, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Category(English)	Doctoral Thesis
種別(和文)	審査の要旨
Type(English)	Exam Summary

Powered by T2R2 (Tokyo Institute Research Repository)

（博士課程）

論文審査の要旨及び審査員

報告番号	甲第　　号	学位申請者氏名	宮城　央子

		氏　名	職　名		氏　名	職　名
論文審査 審査員	主査	中村　信大	准教授	審査員	梶川　正樹	講師
	審査員	太田　啓之	教授			
		田中　幹子	准教授			
		中戸川　仁	准教授			

論文審査の要旨（2000 字程度）

本論文は、「ゼブラフィッシュコネキシン cx36.7 の心筋特異的な遺伝子発現調節機構の解析」と題し、ゼブラフィッシュ *cx36.7* 遺伝子が発生初期における心筋細胞に特異的に発現する分子機構について解明するため、*cx36.7* 遺伝子のプロモーター解析を行ったものであり、全 4 章で構成されている。

第一章「序論」では、本研究の背景について述べている。まず、脊椎動物における心臓形成のプロセスが種間で高く保存されており、心筋細胞分化を誘導する機能分子（転写因子）やその機能も共通点が多いことを説明している。なかでも、過去のノックアウトマウスの解析から GATA 転写因子群が心臓発生に重要な役割を担うことが述べられている。次に、コネキシン分子の構造および細胞機能について説明し、コネキシンが心臓において心臓拍動に必要な電気刺激伝播に必要であり、さらに心臓形成にも重要であることを説明している。また、このような心臓発生や心機能に関与する遺伝子の機能解析はマウスなどを用いて行われてきたが、最近ではゼブラフィッシュが有用なモデル動物として利用されていることをその利点について紹介しながら述べている。続いて、心筋細胞の筋原繊維形成に必要なシグナル伝達分子として同定されたゼブラフィッシュ cx36.7 の発見の経緯とその作用機序に関する現在の知見および未解明の問題点について説明をしている。特に、*cx36.7* 遺伝子の心筋細胞特異的な発現調節機構を解明することは、筋原繊維形成に必要なシグナル伝達のタイミング決定の分子機構解明への手がかりとなり得る可能性があることを指摘し、*cx36.7* 遺伝子プロモーターの活性調節機構の解析の重要性を説明している。

第二章「材料と方法」では、本研究で用いた材料および実験方法が述べられている。

第三章「結果」では、*cx36.7* 遺伝子の転写開始点から上流の配列について心臓特異的なプロモーター活性に必要な領域の絞込みを行っている。上流配列の 5'末端欠失変異体を緑色蛍光タンパク質 EGFP 遺伝子に結合させたものを、*tol2* トランスポゾンシステムを用いてゼブラフィッシュ受精卵のゲノム中に転移させて、受精後一日の胚に発現している EGFP の蛍光を観察している。その結果、転写開始点より上流 133 bp までの領域が心臓特異的な発現に重要であることを明らかにしている。次に、心臓特異的なプロモーター活性化に必要な *cis* 配列を同定するために、上流 316 bp の領域内に存在する転写因子結合予測配列に点変異を導入してプロモーター活性への影響について確認をしている。その結果、4 つある GATA 結合配列の内、転写開始点に近い 2 つ（GATA#1 と GATA#2）が協調的に心臓特異的なプロモーター活性化に関与していることを明らかにしている。さらに、*in situ* hybridization による *cx36.7* の発現局在が心筋細胞分化への関与が知られている転写因子 Gata4、Gata5、Gata6 の発現パターンとほぼ一致することを示し、これら 3 種類の GATA 転写因子の発現抑制を行うと心臓特異的なプロモーター活性が著しく減少することを見出している。また、*in vitro* pull down 解析によって Gata4 が GATA#1 と GATA#2 配列に直接結合することを明らかにしており、Gata4、Gata5、Gata6 が心臓特異的なプロモーター活性化に機能する *trans* 因子である可能性を示している。興味深い結果として、上流 133 bp のプロモーター配列を用いた解析では、受精後二日以降に心臓以外に骨格筋にも EGFP の発現が認められ、316 bp の上流配列では認められないことを見出している。点変異解析によって、骨格筋でのプロモーター活性化に GATA#2 配列が関与するものの、遠位の 2 つの GATA 結合配列（GATA#3 と GATA #4）と AT-rich 配列が強く抑制していることを明らかにしている。また、これらの活性化と抑制機構に Gata4、Gata5、Gata6 が寄与している可能性は非常に低いことが発現抑制実験から示されている。

第四章「考察」では、以上の結果をまとめ、cx36.7 の遺伝子発現はプロモーター活性の心臓特異的な促進機構と骨格筋特異的な抑制機構によって調節されているとし、その分子機序について議論をしている。

以上を要するに、本論文は、cx36.7 の発現誘導が心臓発現型の GATA 転写因子群によって制御されていることを示し、さらには骨格筋特異的なリプレッサーを利用するという心筋特異的遺伝子ではこれまでにあまり報告が少ない発現制御機構の存在を明らかにして筋細胞における遺伝子発現の分子機構の解明に寄与しており、理学上貢献するところが大きい。よって、本論文は博士（理学）の学位論文として十分な価値があるものと認められる。

注意：「論文審査の要旨及び審査員」は、東工大リサーチリポジトリ（T2R2）にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。