

(続 紙 1)

京都大学	博士 (生命科学)	氏 名	谷 村 信 行
論文題目	マウスES細胞の多能性維持機構におけるSall4の機能解析		
(論文内容の要旨)			
ほ乳類 Oct-3/4, Sox2 は、初期胚や ES 細胞において分化多能性の維持に必須な転写因子である。Oct-3/4, Sox2 遺伝子をはじめとする多分化能維持に必要な遺伝子のエンハンサー領域には、Oct-Sox element と呼ばれる Oct-3/4 結合配列と Sox2 結合配列が隣接した配列が存在する。ES 細胞では、Oct-3/4, Sox2 を含む転写因子群が多能性を維持する転写調節ネットワークを形成しており、これらの転写因子の幾つかが Oct-Sox element に結合し、複合体を形成することが示唆されていたが、そのような複合体の構成因子については不明な点が多い。本研究において、申請者は、Oct-Sox element に作用する複合体因子を同定するために、ES 細胞の核抽出液から Oct-Sox element を含むオリゴヌクレオチドに結合する蛋白質を精製し、Spalt-like family に属する蛋白質である Sall4 を同定した。次に、Sall4 が Oct-3/4, Sox2 と直接結合し、Sall4 と Oct-3/4、もしくは Sall4 と Sox2 は、マウス ES 細胞において Oct-Sox element に同時に局在することを明らかにした。また、Oct-Sox element を持つレポーターコンストラクトを用いたルシフェレースアッセイの結果、ES 細胞で Sall4 を過剰発現させると、Oct-Sox element 依存的にルシフェレース活性が増強されことを示した。さらに、ChIP-on-chip 解析によって、Sall4 と Sox2 が独立して遺伝子に結合すると仮定した場合よりも有意に高頻度に、Sall4 と Sox2 が同じ遺伝子上に局在することが明らかとなった。このような遺伝子の一部では、そのプロモーター領域において Sall4 と Sox2 は非常によく似た局在パターンを示したため、Sall4 と Sox2 は複合体を形成して機能することが示唆された。Gene ontology 解析の結果、Sall4 の局在領域が Sox2 の局在領域と重なる遺伝子群が、多能性の維持に関わる遺伝子を有意に濃縮していることが明らかとなった。さらに、先行研究による Oct-3/4 結合遺伝子の結果と統合することにより、Oct-3/4, Sox2, Sall4 の 3 者が全て局在する遺伝子を同定し、そのような遺伝子は、Sall4 と Sox2 が結合する遺伝子よりも多能性の維持に関与する遺伝子を濃縮していることが示された。以上の結果から、Oct-3/4, Sox2, Sall4 の 3 者が複合体を形成し、ES 細胞において多能性を維持するための転写調節機構に寄与することが示唆された。			

(論文審査の結果の要旨)

本論文は、四章から構成されており、第一章序論においては、マウスES細胞などの多分化能をもつ細胞において、Oct-3/4とSox2を含む転写因子ネットワークが多分化能維持に重要であることを指摘し、本研究の目的が、Oct-3/4とSox2とともに複合体を形成する因子を同定し、その機能解析をすることであると述べられている。第二章において、本研究で用いられた実験材料・方法を述べた後、第三章結果において、本研究で得られた実験結果を記載している。すなわち、申請者は、Oct-3/4-Sox2結合配列をもつオリゴヌクレオチドに特異的に結合する蛋白質をマウスES細胞核抽出液から精製し、Spalt-like familyに属する蛋白質であるSall4を検出した。次に、Sall4がOct-3/4, Sox2と直接結合し、Sall4とOct-3/4、もしくはSall4とSox2は、マウスES細胞においてOct-3/4-Sox2結合配列に同時に局在することを明らかにした。また、Oct-3/4-Sox2結合配列を持つレポーターコンストラクトを用いたルシフェーラスアッセイを用いて、Sall4がOct-3/4, Sox2と生物学的的に協調して機能することを示した。最後に、網羅的なChIP-on-chip解析によって、Sall4とSox2が複数の遺伝子に結合し、それらの遺伝子は多分化能維持に関係するものが多いことを明らかにした。さらに、公開されているOct-3/4結合遺伝子に関するデータを利用して、Oct-3/4, Sox2, Sall4の三者が結合する遺伝子集団には、多分化能維持に関わる遺伝子がより特異的に抽出されることを示した。第四章考察においては、実験結果から推測される多分化細胞の転写因子ネットワークについてモデルを提唱している。本研究は、マウスES細胞において、Oct-3/4, Sox2, Sall4が多分化能維持に重要な役割を果たしていることを、生化学的およびバイオインフォマティクス的手法を駆使して明らかにしたものであり、多分化能をもつ哺乳類細胞の理解に多大な寄与をするものである。

以上のことから、本論文は博士（生命科学）の学位論文として価値あるものと認めた。また、平成 25 年 2 月 8 日に論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果、申請者を合格と認めた。

論文内容の要旨及び審査の結果の要旨は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。特許申請、雑誌掲載等の関係により、学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。

要旨公開可能日： 年 月 日