

氏名 李 豊 倩

学位（専攻分野） 博士（理学）

学位記番号 総研大甲第89号

学位授与の日付 平成6年3月24日

学位授与の要件 生命科学研究科 遺伝学専攻

学位規則第4条第1項該当

学位論文題目 Mediators for Activation of fushi tarazu Gene
Transcription by BmFTZ-F1

論文審査委員 主査教授 石濱 明

教授 瀬野 悍二

教授 杉山 勉

助教授 山尾 文明

教授 半田 宏（東京工業大学）

論文内容の要旨

FTZ-F1 has been identified as a sequence specific DNA-binding protein in *Drosophila*. It binds to a 9 base pairs sequence in the upstream regulatory region of the *fushi tarazu* (*ftz*) gene. Binding site-dependent expression of the *ftz-lacZ* fusion genes in transformed embryos showed that FTZ-F1 is a positive regulator of the *ftz* gene. A posterior silk gland extract from the silkworm *Bombyx mori* contains a factor termed BmFTZ-F1 which recognizes the same DNA sequence as FTZ-F1 and has many biochemical characters similar to FTZ-F1. Molecular cloning of cDNAs for FTZ-F1 and BmFTZ-F1 revealed that they are members of the steroid hormone receptor superfamily and share homologies in the DNA-binding and the putative ligand-binding domains.

Using the *in vitro* transcription systems from posterior silk gland cells, I found that BmFTZ-F1 can activate transcription of the *ftz* gene in a FTZ-F1-binding site dependent manner. To elucidate the mechanism of transactivation by BmFTZ-F1, I used *in vitro* transcription systems from HeLa cells. Because the HeLa system does not contain a FTZ-F1 like activity, it serves as a recipient in complementation assay for active components derived from the posterior silk gland extract. The results of these analyses suggest that two proteins (18kDa and 22kDa polypeptides) termed MBF (*mediator of BmFTZ-F1*) 1 and MBF2, respectively, that form a heterodimer and mediate activation of *in vitro* transcription from the *ftz* gene promoter by BmFTZ-F1. Neither MBF1 nor MBF2 binds to DNA. MBF1 interacts with BmFTZ-F1 and stabilizes the BmFTZ-F1•DNA complex. MBF1 also makes a direct contact with TATA-binding protein (TBP). Both MBF1 and MBF2 are necessary to form a complex between BmFTZ-F1 and TBP. I propose a model in which MBF1 and MBF2 form a bridge between BmFTZ-F1 and TBP, and mediate transactivation by stabilizing the protein•DNA interactions. This is the first isolation of mediators capable of modulating transactivator function directly.

論文審査結果の要旨

転写因子FTZ-F1は、ショウジョウバエで*fushi tarazu*遺伝子の転写昂進因子として発見された。申請者は、FTZ-F1と類似構造をもち、比較的材料調製が容易なカイコの相同蛋白因子BmFTZ-F1と、HeLa細胞由来の基本転写系を用いて、その作用機構を試験管内で解析した。その結果、特異転写因子BmFTZ-F1が作用するためには、転写基幹装置との間に介在して連結する2種のメディエーター因子、MBF1とMBF2が必要なことが判明した。その上で、この介在因子は、基幹転写装置側ではTATA結合因子(TBP)と接触していることを蛋白-蛋白複合体形成で示唆した。遺伝子ごとの特異転写因子については、現在1,000種を超える報告があるが、それらの転写活性化作用機構は殆ど分かっていない。そのなかで、本研究は先駆的なものである。TBP結合活性を指標に、現在多くの蛋白因子(TAF)が報告されはじめているが、本研究で同定されたメディエーターとそれらの関係など残された問題も多いが、この研究が、主として本学大学院生によってなされたことは特筆してよい。

申請者は、分子遺伝学のフロントとなっている転写研究の現状をよく理解し、自己の観察をその中で正しく位置付けている。研究の内包する問題点もよく理解し、当面の課題の判断も適格である。学位を授与するのに相応しい学力を備えていると判断された。