

Title	Novel human BTB/POZ domain-containing zinc finger protein ZNF295 is directly associated with ZFP 161.
Sub Title	BTB/POZドメインをもつ新規zinc fingerタンパクZNF295はZFP161と直接結合する
Author	王, 筠
Publisher	慶應医学会
Publication year	2005
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.82, No.2 (2005. 6) ,p.12-
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	号外
Genre	Journal Article
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20050602-0012

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the Keio Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

Novel human BTB/POZ domain-containing zinc finger protein ZNF295 is directly associated with ZFP161.

(BTB/POZドメインをもつ新規zinc fingerタンパクZNF295はZFP161と直接結合する)

王 筠

内容の要旨

ヒト21番染色体q22.3領域から新規遺伝子ZNF295を単離した。ZNF295は、BTB/POZドメインおよび*krüppel*タイプ(C₂H₂) zinc finger (ZF)ドメインをもつPOK(POZと*krüppel*)転写因子群の一つである。ZNF295は5個のエキソンからなる約24kbの遺伝子であるが、調べた27種類のヒト組織のすべてで長さの異なる多様な転写産物の発現が認められた。これらの様々な転写産物は5'非翻訳領域エキソンにおける選択的スプライシング、翻訳領域内におけるエキソン内のスプライシング、3'非翻訳領域における3ヵ所のポリアデニル化シグナルの使用によって生じていることを発見した。エキソン内のスプライシングにより603塩基のコアティング配列が除かれるため、ZNF295遺伝子は長型ZNF295L(1,066アミノ酸残基)と短型ZNF295S(865アミノ酸残基)の2種類のタンパク質を産生した。ZNF295Lは、N末側に1個のBTB/POZドメイン、C末側にそれぞれ9個のZFドメインをもち、ZNF295Sは、最初の4個のZFドメインを含む201アミノ酸残基を欠いていた。ZNF295LおよびZNF295SをヒトのHEK293とHeLa細胞で発現させたところ、両者は共に核内に局在した。BTB/POZドメイン単独でも核内に局在した。デュアルルシフェラーゼレポーターアッセイ法を用いて調べたところ、GAL4 DNA結合ドメインと融合したZNF295はHEK293細胞においてc-mycプロモーターからの転写を発現量依存的に抑制した。さらに、ZNF295の各部分断片を用いて同様の実験を行った結果、ZNF295のc-mycプロモーターに対する転写抑制活性はBTB/POZドメインだけでなく、BTB/POZドメインとZFドメインの中間部分にも存在することが判った。この中間部分の中にフグのZNF295と高い相同性を示す2つの領域を発見し、HFC-1、HFC-2と名付けた。また、GAL4 DNA結合ドメインと融合したZNF295は、c-mycの他にCDC6、PGK、RSV、SV40、TKプロモーターからの転写も抑制したが、GAL4 DNA結合ドメインなしでも、c-myc、CDC6とPGKプロモーターからの転写を抑制した。これらの実験によって、ZNF295は転写の抑制因子であり、その抑制作用は様々なプロモーターに選択的に及ぶことが示された。一方、2種類のタグを付加したZNF295をHEK293細胞で共発現させ、免疫沈降を行った結果、ZNF295タンパクは互いに結合して二量体を形成することが示された。また、ZNF295タンパクは同じくPOKファミリーに属するZFP161とも結合し、その結合はZNF295のBTB/POZドメイン単独でも、ZFドメイン領域単独でも可能であることが判った。ZFP161タンパクは発生の段階、細胞および環境によって、転写に抑制的にも促進的にも作用すると報告されているから、ZNF295はZFP161と協同して、様々な遺伝子の抑制・促進両方の転写調節に関係するかもしれない。またZNF295は胎児、成人の様々な組織で普遍的に発現しており、その過剰発現が様々な遺伝子の発現に影響を及ぼす可能性が高い転写因子なので、ダウン症の諸症状の有力な候補遺伝子である。

論文審査の要旨

ダウン症は21番染色体のトリソミーに起因することから、21番染色体に存在する遺伝子の網羅的解析はダウン症の原因遺伝子を解明するために必須と考えられる。また、21番染色体バンドq22.3領域は双極性障害の疾患感受性遺伝子がマップされている領域でもある。本研究ではこの疾患候補領域から単離した新規遺伝子ZNF295の転写産物の構造及びタンパクの機能解析を行った。ZNF295遺伝子は翻訳領域における選択的スプライシング等のため、ヒトの様々な組織で長さの異なる多様な転写産物を発現しており、その結果、長短2種類のタンパクが産生されることが明らかにされた。また、ZNF295はBTB/POZドメインおよび*krüppel*タイプzinc fingerドメインをもつPOKタンパクであり、転写の抑制因子として、様々なプロモーターに選択的に働き、この抑制作用はBTB/POZドメインと中間部分に別々に存在することが示された。さらに、ZNF295はホモダイマーになることが確認され、POKタンパクファミリーのZFP161と直接結合することも確認された。ZNF295はZFP161と協同して、様々な遺伝子の転写調節に関係していると考えられた。

審査においては、まず、ZNF295がプロモーターに選択的に働く原因について質問がなされた。これについて、類似のPOXタンパクの機能解析からの類推により、DNA結合活性をもつzinc fingerドメインが認識する特異的配列をもつプロモーターの転写を抑制すると考えたと回答された。次に、ZNF295の中間部分にあるHFC-1とHFC-2ドメインはフグ以外の種に存在するかどうかおよび中間部分の抑制作用ドメインの探索方法について質問がなされた。HFC-1およびHFC-2ドメインはフグの他に、マウス、ラット、ニワトリ、イヌおよびチンパンジーのZNF295に共通に存在すると回答された。中間部分の抑制作用ドメインを同定するために、中間部分由来の短い断片あるいはHFC-1、HFC-2に突然変異を持つ断片を用いた実験を計画していると説明された。また、ZNF295がZFP161のほかに別のタンパクと結合する可能性および結合するタンパクの探索方法について質問がなされ、ZNF295はPOKタンパクだけではなく、共抑制因子など他のタンパクとの結合の可能性もあると回答され、結合タンパクの探索方法にはTwo-hybrid法あるいは質量分析法などの方法があると回答された。最後に、ZNF295と双極性障害およびダウン症との関連について質問がなされた。ZNF295およびそれと結合するタンパクZFP161は各々双極性障害の疾患感受性遺伝子がマップされた領域に同定されたので、正常対照群と患者群におけるZNF295とZFP161遺伝子の多型の頻度を調べることによりこの疾患との関連がわかると回答された。ZNF295とダウン症との関連について、Znf295を含む領域をトリソミーでもつモデルマウスがダウン症の類似症状をもつと回答された。さらに、このモデルマウスとZnf295のノックアウトマウスとの交配により、Znf295のみを二倍体に戻すことにより、改善される症状がある場合、Znf295とダウン症との関連が証明できるであろうと説明された。

以上のように、本研究はさらに検討すべき課題が残されているが、ZNF295は転写の抑制因子として、プロモーターに選択的に働くことが示されており、ダウン症や双極性障害の発症の原因解明にもつながり得る興味深く有意義な研究であると評価された。

論文審査担当者 主査 分子生物学 清水 信義

先端医科学 河上 裕 微生物学・免疫学 小安 重夫

発生・分生物学 須田 年生

学力確認担当者：

審査委員長：河上 裕

試問日：平成17年 2月21日