

千葉大学大学院自然科学研究科 教授

田村 隆明

「核内因子による遺伝情報発現制御機構の解明」

1. 研究実施の概要

TBP 関連因子の検索とその機能解析（研究代表者グループ）

転写は遺伝子発現制御を司る主要な過程であり、転写制御機構の解明は生命活動を理解する上で必須である。細胞内で起こる膨大な数の転写は、統合や同調、そして多様性や特異性を保ちつつ進められているが、その詳しい分子機構の多くはまだ不明のままである。研究代表者は基本転写機構の中でとりわけ中心的な役割を果たす因子である TBP（TATA 結合蛋白質）に注目し、この因子と結合する因子や、それと複合体を成す因子の解析、さらには TBP 機能それ自身のポテンシャルを修飾する活性に焦点を当てて研究を進めた。始めに TBP 結合因子群（TIP）を検索する新たな *in vitro* 実験系を確立し、複数の TIP を見出した。TBP と結合する因子、あるいはそれを含む複合体という点に関し、タンパク質分解装置であるプロテアソームに含まれる複数の ATPase が、細胞内で TBP と複合体を形成する事実を明らかにした。この発見により、プロテアソーム ATPase に複数の存在形態があることが示された。興味あることに、ある種のプロテアソーム ATPase は複数の基本転写因子や、後述する TIP120A と複合体を形成しており、ATPase が転写制御に直接関わる可能性を示唆した。これとは別に、スプライシング関連因子の一つである hnRNP-F を TBP と複合体を形成する因子として同定し、転写とスプライシングの共役についても考察を加えた。耐熱性 TIP として、新規因子 TIP120 とそのファミリーを同定した。TIP120A については *in vivo*、*in vitro* 転写実験により、基本転写反応を活性化する機能を持つ新しいタイプの転写活性化因子であることを明らかにした。TIP120B は筋特異的なタンパク質であり、筋分化に伴って遺伝子が活性化されることから、筋分化因子の可能性がある。TIP120A 自身も細胞分化に伴って発現誘導が起ることから、TIP120 ファミリーは分化に関わる転写関連因子と見なすことができた。このほかの TIP として、酵母からヒトにいたる生物の間で高度に保存されている TIP49 を、世界に先駆けて同定した。TIP49 は細胞増殖に必須な因子であるが、他の多くのグループの研究により、それがクロマチン再構成複合体やクロマチン修飾因子複合体の中に含まれること、あるいはいくつかの転写因子のコアクチベーターとして機能することがわかり、転写制御に広く関与するユニークな分子と見なされるに至った。TIP49 は細胞質（膜）にも存在しており、細胞外シグナル受容体として機能することも示され、多機能因子であることが明らかとなった。

TBP 解析の過程で、TBP に良く似た因子として TLP（TBP-like protein）を発見した。TLP は TBP に類似する構造的特徴や他のグループによる遺伝子ノックアウトなどの解析から、転写因子と予想された。本研究ではまず、様々な生物種から TLP を同定してその構造の比較検討を行ない、TLP が TBP 以上に進化的に保存されている因子であることを明らかにした。植物や酵母からは TLP は同定されず、後生動物特異的因子であることも示された。TLP は TBP と緩い相同性をもち、TBP 様の活性が期待されたが、実際には TATA-box 結合能も TBP に代わる *in vitro* 転写活性化能も示さず、この意味で、TBP と同等の活性を示すショウジョウバエ特異的 TRF1 のオルソログではないと結論された。TLP の転写活性化能を細

胞を用いて解析した。まず one-hybrid アッセイにより、TLP に強い転写活性化能を認めた。さらに通常のトランスフェクションによっても有意な転写活性化能が検出され、TLP の転写活性化因子としての潜在能力が示された。後者の解析では、TATA-box を持たないプロモーターが選択的に活性化され、TATA プロモーターはどちらかといえば転写が抑制される傾向が見られ、この事より TLP がコアプロモーター選択に関与すると考えられた。ほ乳類の TLP は細胞内では大部分が細胞質に存在し、また TFIID のような巨大複合体の形をとらず、TFIIA との単純な複合体として存在することを明らかにした。面白いことに、TLP-TFIIA 複合体の安定性は、TFIIA の本来のパートナーと考えられていた TBP との安定性より数段高かった。トリ DT40 細胞を用いて TLP ノックアウト細胞を樹立し、その細胞挙動を解析した結果、TLP が細胞増殖に負に働く事を明らかにした。ノックアウト細胞は種々の細胞傷害ストレスに対して抵抗性を示し、ストレスによる G2 期アレストを回避するように働き、同時に、ストレスによって生ずるアポトーシス細胞数の減少も見られた。以上の結果より、TLP は G2 チェックポイント因子として作用することが明らかとなった。これら研究の過程で、細胞質 TLP が G2 期やストレス負荷時、一過的に核移行するという現象が観察され、このことから、TLP は必要な時に核移行して転写因子として働くというモデルが提唱された。そこでストレスを与えた直後の細胞から RNA を調製し、いくつかの遺伝子についてその発現量を測定したところ、ストレス応答関連、あるいは細胞増殖に関連するいくつかの遺伝子で、正あるいは負の発現誘導が見られ、仮説が支持される結果となった。TLP は細胞の基本的活動を維持するための遺伝子発現制御を考える上だけでなく、基本転写機構を介した発現遺伝子の選択を考える上でも重要な因子と考えられた。

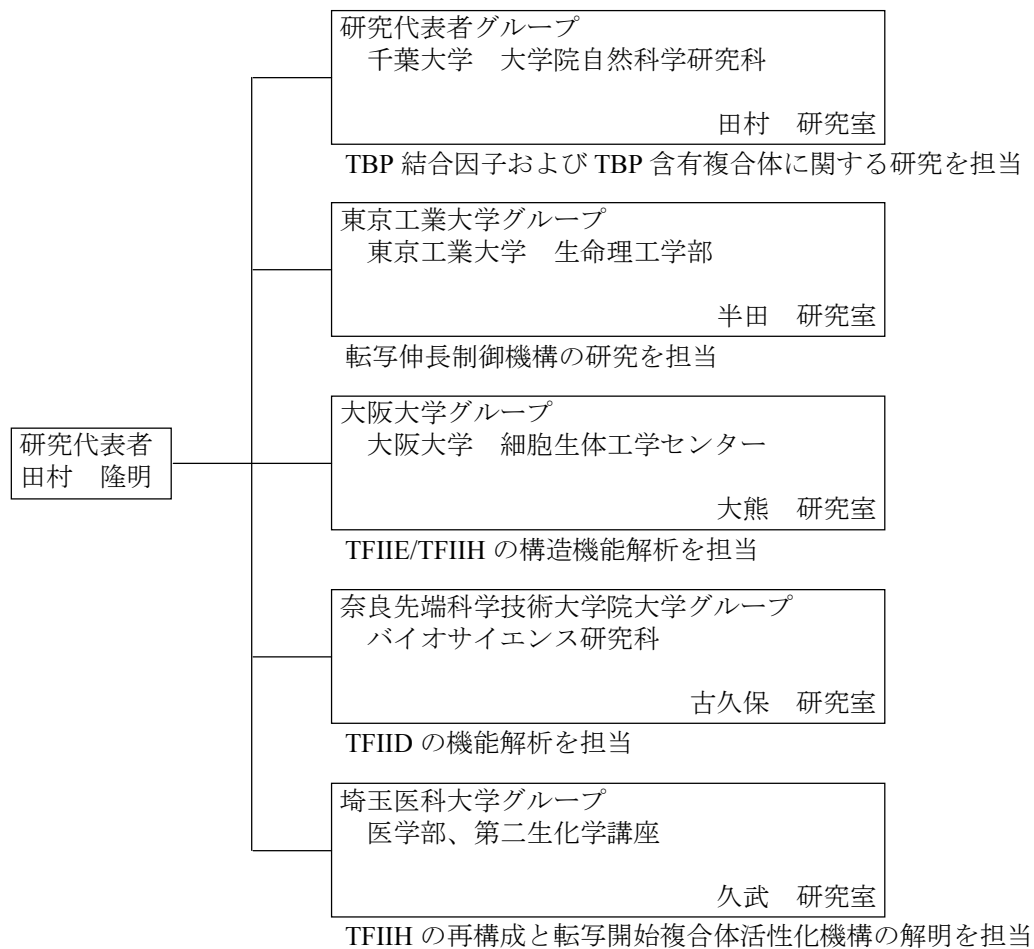
東京工業大学グループは Pol II の転写反応阻害剤 DRB の作用機構について研究を行ない、2つの転写伸長因子 DSIF と NELF を世界に先駆けて同定した。研究の結果、DSIF は相互作用するパートナーにより、転写伸長反応を正にも負にも制御する因子であること、そして NELF が転写抑制に働く実働分子であることを明らかにした。転写を行なう RNA ポリメラーゼ II (Pol II) は、少なくとも転写開始と伸長過程への移行期の2つの段階で活性化されて転写を完了する活性型になり、その際、基本転写因子 TFIID が自身のリン酸化活性を用いて Pol II を活性化すると考えられている。大阪大学グループでは、これら転写開始と伸長過程への移行期の2段階の機構を、TFIID とこれを制御する TFIIE の解析を通して明らかにした。奈良先端科学技術大学院大学グループは、出芽酵母の TFIID の解析を通して TFIID の中に転写阻害サブユニットを見い出し、その作用機構を明らかにした。埼玉医科大学グループは、バキュロウイルスを用いたタンパク質発現系における TFIID の再構成に成功し、この系を用いて TFIID の転写開始や転写伸長に及ぼす TFIIDH の効果、とりわけリン酸化と転写制御能との関連性を明らかにした。

2. 研究構想

真核細胞の核内では様々な反応が並行して起っている。遺伝子発現は転写から核外輸送に至る様々な反応の総和によって統御され、またそこには多くの因子が関わっているが、これら個々の反応が独立に起っているとは考えにくい。研究代表者を含めたこれまでの研究により、核内反応がまとまりを持って存在する巨大複合体の中で、統一的に、かつ関連して起こる可能性が示唆され、また、転写と他の核内反応が因子を共有する事実も明らかになっている。核内反応関連因子の相互作用とそれらの共局在がなぜ必要なのかという問に対し、本研究では基本転写因子をベースに置いて、それと相互作用する因子の解析や、核内因子を含む複合体の解析を通してこれに取り組むことを目標とした。この課題とは別に、転写機構の解明においても、いまだ根本的な問題が未解決のまま残されているという状況がある。典型的なプロモーターからの転写機構がほぼ明らかになったのに対し、遺伝子の半数を占める非典型的プロモーター上での転写開始機構は、ほとんど手がつけられていない。本研究では、基本転写因子の多様性、あるいは多様性を生む修飾機構を見出し、これによってゲノムレベルでの包括的遺伝子発現調節機構に迫ることも目的とした。各サブグループは、転写伸長や転写開始においてそれぞれ独自の因子に注目して研究を行なっているが、サブグループの研究は、その作用機構の普遍性と多様性の解明という観点から、研究代表者の研究課題に資することを目的としている。

3. 研究実施体制

(1) 体制



4. 研究期間中の主な活動

(1) ワークショップ・シンポジウム等

「なし」

5. 主な研究成果

(1) 論文発表 (国内 0件、海外 77件)

研究代表者グループ

1. T. Kishimoto, K. Kokura, N. Ohkawa, Y. Makino, M. Yoshida, S. Hirohashi, S. Niwa, M. Muramatsu, and T. Tamura (1998). Enhanced expression of a new class of liver-enriched B-zip transcription factor, HTF, in hepatocellular carcinomas of rats and humans. *Cell Growth & Differentiation*, 9, 337-344.
2. Y. Makino, T. Mimori, C. Koike, Y. Kurokawa, M. Kanemaki, S. Inoue, T. Kishimoto, and T. Tamura (1998). TIP49, homologous to the bacterial DNA helicase RuvB acts as an autoantigen in human. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 245, 819-823.
3. K. Kokura, T. Nakadai, T. Kishimoto, Y. Makino, M. Muramatsu, and T. Tamura (1998). Gene expression in hepatomas. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 13, 132-141.
4. T. Nakadai, T. Kishimoto, K. Kokura, N. Ohkawa, Y. Makino, M. Muramatsu, and T. Tamura (1998). Cloning of a novel gene, DB83, that encodes a putative membrane protein. *DNA Research*, 5, 315-317.
5. T. Ohbayashi, Y. Makino, and T. Tamura (1999). Identification of a mouse TBP-like protein (TLP) distantly related to the *Drosophila* TBP-related factor. *Nucl. Acids Research*, 27, 750-755.
6. T. Ohbayashi, T. Kishimoto, Y. Makino, M. Shimada, T. Nakadai, T. Aoki, T. Kawata, S. Niwa and T. Tamura (1999). Isolation of cDNA, chromosome mapping, and expression of the human TBP-like protein (TLP). *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 255, 137-142.
7. Y. Kurokawa, M. Kanemaki, Y. Makino, and T. Tamura (1999). Notable example of evolutionary conserved gene: studies on a putative DNA helicase TIP49. *DNA Sequence*, 10, 37-42.
8. Y. Konishi, N. Ohkawa, Y. Makino, H. Okubo, R. Kageyama, T. Furuichi, K. Mikoshiba, and T. Tamura (1999). Transcriptional regulation of mouse type 1 inositol 1,4,5-trisphosphate receptor gene by NeuroD-Related Factor. *Journal of Neurochemistsry*, 72, 1717-1724.
9. N. Ohkawa, Y. Konishi, M. Shimada, Y. Makino, S. Yoshikawa, K. Mikoshiba and T. Tamura (1999). Activation of the mouse inositol 1,4,5-trisphosphate receptor type 1 promoter by AP-2. *Gene*, 229, 11-19.
10. Y. Makino, M. Kanemaki, Y. Kurokawa, T. Koji, and T. Tamura (1999). A rat RuvB-like protein, TIP49a, is a germ cell-enriched novel DNA helicase. *Journal of Biological Chemistry*, 274, 15329-15335.
11. T. Nakadai, T. Kishimoto, Y. Miyazawa, Y. Makino, T. Obinata, and T. Tamura (1999). HP33: hepatocellular carcinoma-enriched 33-kDa protein with similarity to mitochondrial N-acyltransferase but localized in a microtubule-dependent manner at the centrosome. *Journal of Cell Science*, 112, 1353-1364.
12. M. Shimada, Y. Konishi, N. Ohkawa, C. Maruyama, F. Hanaoka, Y. Makino, and T. Tamura (1999). Distribution of AP-2 subtypes in the adult mouse brain. *Neurosc. Res.*, 33, 275-280.
13. K. Kayukawa, Y. Makino, S. Yogosawa and T. Tamura (1999). A serine residue in the N-terminal acidic region of rat RPB6, one of the common subunits of RNA polymerases, is

- exclusively phosphorylated by casein kinase II *in vitro*. *Gene*, 234, 139-147.
14. T. Nakadai, N. Okada, Y. Makino and T. Tamura (1999). Structure of rat gamma-tubulin and its binding to HP33. *DNA Research*, 6, 207-209.
 15. M. Kanemaki, Y. Kurokawa, T. Matsu-ura, Y. Makino, A. Masani, K. Okazaki, T. Morishita, and T. Tamura (1999). TIP49b, a new RuvB-like DNA helicase, is included in a complex together with another RuvB-like DNA helicase TIP49a. *J. Biological Chemistry*, 274, 22437-22444.
 16. T. Tamura, Y. Konishi, N. Ohkawa, M. Shimada, T. Ohbayashi, T. Aoki, and Y. Makino (1999). Transcriptional regulation of the inositol1,4,5-trisphosphate receptor type1 gene in the central nervous system. *Recent Research Development in Neurochemistry*, 2, 125-137, Research Signpost Publisher, Trivandrum, India
 17. M. Shimada, T. Ohbayashi, T. Nakadai, Y. Makino, T. Aoki, T. Kawata, T. Suzuki, Y. Matsuda and T. Tamura (1999). Analysis of the chicken *TBP-like protein (tlp)* gene: evidence for a striking conservation of vertebrate TLPs and for a close relationship between *tlp* and *tbp* genes. *Nucleic Acids Research*, 27, 3146-3152.
 18. T. Aoki, N. Okada, M. Ishida, S. Yogosawa, Y. Makino, and T. Tamura (1999) TIP120B: a novel TIP120-family protein that is expressed specifically in muscle tissues. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 261, 911-916.
 19. T. Yoshida, Y. Makino, and T. Tamura (1999). Association of the rat heterogeneous nuclear RNA ribonucleoprotein F with TATA-binding protein. *FEBS Letters*, 457, 251-254.
 20. Y. Makino, T. Yoshida, S. Yogosawa, K. Tanaka, M. Muramatsu, and T. Tamura (1999). Multiple mammalian proteasomal ATPases, but not proteasome itself, are associated with TATA-binding protein and a novel transcriptional activator, TIP120. *Genes to Cells*, 4, 529-539.
 21. Y. Makino, S. Yogosawa, K. Kayukawa, F. Coin, J. Egly, K. Yamamoto, M. Muramatsu, Z. Wang, R.G. Roeder, and T. Tamura (1999). TBP-interacting protein120, TIP120, stimulates three classes of eukaryotic transcription *via* a unique mechanism. *Molecular and Cellular Biology*, 19, 7951-7960.
 22. S. Yogosawa, K. Kayukawa, T. Kawata, Y. Makino, S. Inoue, A. Okuda, M. Muramatsu, and T. Tamura (1999). Induced expression, localization and chromosome mapping of the TIP120A. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 266, 123-128.
 23. T. Yoshida, K. Kokura, Y. Makino, V. Ossipow, and T. Tamura (1999). Heterogeneous nuclear RNA-ribonucleoprotein F binds to DNA via an oligo(dG)-motif and is associated with RNA polymerase II. *Genes to Cells*, 4, 707-719.
 24. K. Kokura, T. Kishimoto, and T. Tamura (2000). Identity between rat *htf* and human *xbp-1* gene: demonstration of gene structure, target sequence, and transcription promotion function of HTF. *Gene*, 241, 297-307.
 25. T. Oda, K. Kayukawa, H. Hagiwara, T. Yodate, Y. Masuho, Y. Murakami, T. Tamura, and M. Muramatsu (2000). A novel TBP-binding protein ABT1 activates basal transcription and has a yeast homolog being essential for growth. *Molecular and Cellular Biology*, 20, 1407-1418.
 26. K. Yamamoto, A. Koga, M. Yamamoto, Y. Nishi, T. Tamura, Y. Nogi, and M. Muramatsu (2000). Identification of a novel 70 kDa protein that binds to the core promoter element and is essential for ribosomal DNA transcription. *Nucleic Acids Research*, 28, 1199-1205.
 27. Y. Makino, M. Kanemaki, A. Koga, K. Osano, T. Matsu-ura, Y. Kurokawa, and T. Tamura

- (2000). Chromosome mapping and expression of Tip49 family genes. *DNA Sequence*, 11, 143-148.
28. Y. Konishi, T. Aoki, N. Ohkawa, T. Matsu-ura, K. Mikoshiba, and T. Tamura (2000). Identification of the carboxy-terminal activation domain of NeuroD-related factor (NDRF). *Nucleic Acids Research*, 28, 2406-2412.
29. S. Yanagi, N. Shimbara, and T. Tamura (2000). Tissue and cell distribution of a mammalian proteasomal ATPase, MSS1, and its complex formation with the basal transcription factors. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 279, 568-573.
30. S.B. Hawley, T. Tamura, and L.A. Miles (2001). Purification, cloning and characterization of a profibrinolytic plasminogen binding protein: TIP49a. *J. Biological Chemistry*, 276 (1), 179-186.
31. K. Kayukawa, Y. Kitajima, and T. Tamura (2001). TIP120A is a new global transcription factor with bipartite functional domains. *Genes to Cells*, 6, 165-174.
32. N. Ohkawa, K. Kokura, T. Matsu-ura, T. Obinata, Y. Konishi, and T. Tamura (2001). Molecular cloning and characterization of NARF, neural activity-related ring finger protein: A new member of the RBCC family is a candidate for the partner of myosin V. *Journal of Neurochemistry*, 78 (1), 75-87.
33. T. Ohbayashi, M. Shimada, T. Nakadai, and T. Tamura (2001). TBP-like protein (TLP/TLF/TRF2) artificially recruited to a promoter stimulates basal transcription *in vivo*. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 285(3), 616-622.
34. T. Tamura, M. Hashimoto, J. Aruga, Y. Konishi, M. Nakagawa, T. Ohbayashi, M. Shimada, and K. Mikoshiba (2001). Promoter structure and gene expression of the mouse inositol IP3 receptor type 3 gene. *Gene*, 275, 169-176.
35. Y. Konishi, T. Matsu-ura, K. Mikoshiba, and T. Tamura (2001). Stimulation of gene expression of NeuroD-related factor in the mouse brain following pentylenetetrazol-induced seizures. *Molecular Brain Research*, 97, 129-36.
36. T. Tamura, Y. Konishi, T. Matsu-ura, and K. Mikoshiba (2002). Neural activity-inducible transcription factors: Identification of Ca²⁺-related transcription regulators induced in the mouse brain following pentylenetetrazol-mediated seizure. *Recent Advance in Molecular and Cellular Biology*, 3, 75-86.
37. T. Matsu-ura, T. Nakadai, Y. Oda, T. Nagasu, K. Mikoshiba, and T. Tamura (2002). Seizure-mediated accumulation of the b Subunit of Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase II in nuclei of mouse brain cells. *Neuroscience Letters*, 322, 149-152.
38. T. Aoki, N. Okada, T. Wakamatsu, and T. Tamura (2002). TBP-interacting protein 120B, which is expressed in relation to myogenesis, binds to NOT3. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 296, 1097-1103.
39. T. Matsu-ura, Y. Konishi, T. Aoki, J.R. Naranjo, K. Mikoshiba, and T. Tamura (2003). Seizure-mediated neuronal activation induces DREAM gene expression in the mouse brain. *Molecular Brain Research*, 109, 198-206.
40. Y. Konishi, T. Matsu-ura, K. Mikoshiba and T. Tamura (2003). Basic Helix-Loop-Helix (bHLH) transcription factors in the nervous system. *Curr. Topics Neurochem.*, (in press)

東京工業大学グループ

1. M. Hiramoto, N. Shimizu, K. Sugimoto, J. Tang, Y. Kawakami, M. Ito, S. Aizawa, H. Tanaka, I. Makino and H. Handa (1998). Nuclear targeted suppression of NF-kB activity by the novel quinone derivative E3330. *J. Immunol.*, 160, 810-819.
2. M. Hiramoto, S. Aizawa, O. Iwase, M. Nakano, K. Toyama, M. Hoque, R. Nabeshima, A. Kaidow, T. Imai, H. Hoshi and H. Handa (1998). Stimulatory effects of substance P on CD34 positive cell proliferation and differentiation *in vitro* are mediated by the modulation of stromal cell function. *Int. J. Mol. Med.*, 1, 347-354.
3. T. Wada, T. Takagi, Y. Yamaguchi, A. Ferdous, T. Imai, S. Hirose, S. Sugimoto, K. Yano, G.A. Hartzog, F. Winston, S. Buratowski and H. Handa (1998). DSIF, a novel negative transcription elongation factor that regulates RNA polymerase II processivity, is composed of human Spt4 and Spt5 homologs. *Genes Dev.*, 12, 343-356.
4. G.A. Hartzog, T. Wada, H. Handa and F. Winston (1998). Evidence that Spt4, Spt5, and Spt6 control transcription elongation by RNA polymerase II in *Saccharomyces cerevisiae*. *Genes Dev.*, 12, 357-369.
5. Y. Yamaguchi, T. Wada and H. Handa (1998). Drawing a new view of DRB: Interplay between positive and negative elongation factors. (review) *Genes Cells*, 3, 9-15.
6. Y. Yamaguchi, T. Wada, F. Suzuki, T. Takagi, J. Hasegawa and H. Handa (1998). CKII interacts with the bZip domains of several transcription factors. *Nucl. Acids Res.*, 26, 3854-3861.
7. F. Suzuki, M. Goto, C. Sawa, S. Ito, H. Watanabe, J-I.Sawada and H.Handa (1998). Functional interactions of transcription factor hGABP subunits. *J. Biol. Chem.*, 273, 29302-29308.
8. T. Wada, T. Takagi, Y. Yamaguchi, D. Watanabe and H. Handa (1998). Evidence that p-TEFb alleviates the negative effect of DSIF on RNA polymerase II-dependent transcription *in vitro*. *EMBO J.*, 17, 7395-7403.
9. Y. Yamaguchi, T. Takagi, T. Wada, K. Yano, A. Furuya, S. Sugimoto, J. Hasegawa and H. Handa (1999). NELF, a multiple complex containing RD, cooperates with DSIF to repress RNA polymerase II elongation. *Cell*, 97, 41-51.
10. Y. Yamaguchi, T. Wada, D. Watanabe, T. Takagi, J. Hasegawa and H. Handa (1999). Structure and function of the human transcription elongation factor DSIF. *J. Biol. Chem.*, 274, 8085-8092.
11. S. Nishina, S. Kohsaka, Y. Yamaguchi, H. Handa, A. Kawakami, H. Fujisawa and N. Azuma (1999). PAX6 expression in the developing human eye. *British J. Ophthalm.*, 83, 723-727.
12. J. Ozaki, T. Ikegami, M. Mishima, K-I. Takemaru, Y. Kabe, H. Handa, H. Ueda, S. Hirose and M. Shirakawa (1999). Identification of the core domain and the secondary structure of the transcriptional coactivator MBF1. *Genes Cells*, 4, 415-424.
13. M. Hoque, K. Ishizu, A. Matsumoto, S-I. Han, F. Arisaka, M. Takayam, K. Suzuki, T. Kanda, K. Kato, H. Watanabe and H. Handa (1999). Nuclear transport of the major capsid protein is essential for the capsid formation of adeno-associated virus. *J. Virol.*, 73, 7912-7915.
14. J.A. Kim, Y. Yamaguchi, T. Wada, H. Handa and P.A. Sharp (1999). Tat-SF1 protein associates with RAP30 of TFIIIF and hSPT5 protein. *Mol. Cell. Biol.*, 19, 5960-5968.
15. H. Tsutsui, C. Geltinger, T. Murata, K. Itakura, T. Wada, H. Handa and K.K. Yokoyama (1999). The DNA-binding and transcriptional activities of MAZ, a Myc-associated zinc finger protein, are regulated by casein kinase II. *Biochem. Biophysic. Res. Commun.*, 262, 198-205.

16. J-I. Sawada, F. Suzuki, C. Sawa, M. Goto, H. Watanabe and H. Handa (1999). Synergistic transcriptional activation of hGABP and select members of the ATF/CREB family. *J. Biol. Chem.*, 274, 35475-35482.
17. Y. Kabe, M. Goto, D. Shima, T. Imai, T. Wada, K-I. Morohashi, M. Shirakawa, S. Hirose and H. Handa (1999). The role of human MBF1 as a transcriptional coactivator. *J. Biol. Chem.*, 274, 34196-34202.
18. M. Hoque, N. Shimizu, K-I. Ishizu, H. Yajima, F. Arisaka, K. Suzuki, H. Watanabe, and H. Handa (1999). Chimeric virus-like particle formation of adeno-associated virus. *Biochem. Biophysic. Res. Commun.*, 226, 371-376.
19. S. Aizawa, M. Hiramoto, H. Hoshi, K. Toyama, D. Shima and H. Handa (2000). Establishment of stromal cell line from an MDS RA patient which induced an apoptotic change in hematopoietic and leukemic cells in vitro. *Exp. Hematol.*, 28, 148-155.
20. T. Wada, G. Orphanides, J. Hasegawa, D-K. Kim, D. Shima, Y. Yamaguchi, A. Fukuda, K. Hisatake, S. Oh, D.Reinberg and H.Handa (2000). Involvement of FACT in alleviation of DSIF/NELF-mediated inhibition of transcription reveals functional differences between P-TEFb and TFIID. *Mol. Cell*, Vol.5, 1-20.

大阪大学グループ

1. Douziech, M., Coin, F., Chipoulet, J.-M., Arai, Y., Ohkuma, Y., Egly, J.-M. and Coulombe, B. (2000). Mechanism of promoter melting by the XPB DNA helicase of transcription factor TFIID revealed by protein-DNA photo-cross-linking. *Mol. Cell. Biol.* (in press)
2. Watanabe, Y., Fujimoto, H., Watanabe, T., Maekawa, T., Masutani, C., Hanaoka, F., and Ohkuma, Y. (2000). Modulation of TFIID-associated kinase activity by complex formation and its relationship with CTD phosphorylation of RNA polymerase II. *Genes Cells*, 5, 407-423.
3. Okuda, M., Watanabe, Y., Okamura, H., Hanaoka, F., Ohkuma, Y., and Nishimura, Y. (2000). Structure of the central core domain of TFIIDb with a novel double-stranded DNA-binding surface. *EMBO J.*, 19, 1346-1356.
4. Yokoi, M., Masutani, C., Maekawa, T., Sugawara, K., Ohkuma, Y., and Hanaoka, F. (2000). The xeroderma pigmentosum group C protein complex XPC-HR23B plays an important role in the recruitment of TFIID to damaged DNA. *J. Biol. Chem.*, 275, 9870-9875.
5. Araki, M., Masutani, C., Maekawa, T., Watanabe, Y., Yamada, A., Kusumoto, R., Sugawara, K., Ohkuma, Y. and Hanaoka, F. (2000). Reconstitution of damage DNA excision reaction on SV40 minichromosomes with purified nucleotide excision repair proteins. *Mut. Res.*, 459, 147-160.
6. Okamoto, T., Yamamoto, S., Watanabe, Y., Ohta, T., Hanaoka, F., Roeder, R.G., and Ohkuma, Y. (1998). Analysis of the role of TFIIE in transcriptional regulation through structure-function studies of the TFIIDb subunit. *J. Biol. Chem.*, 273, 19866-19876.

奈良先端科学技術大学院大学グループ

1. Y. Tsukihashi, T. Miyake, M. Kawaichi, T. Kokubo (2000). Impaired core promoter recognition caused by novel yeast TAF145 mutations can be restored by creating a canonical TATA element within the promoter region of the TUB2 gene. *Mol. Cell. Biol.*, Vol.20, No.7, 2385-2399.

2. T. Kotani, K-i. Banno, M. Ikura, A.G. Hinnebusch, Y. Nakatani, M. Kawaichi, T. Kokubo (2000). A role of transcriptional activators as anti-repressors for the auto-inhibitory activity of TATA box binding of TFIID. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, Vol.97, No.13, 7178-7183.
3. C. R.Lim, Y. Kimata, H. Ohdate, T. Kokubo, N. Kikuchi, T. Horigome, K. Kohno (2000). The *Saccharomyces cerevisiae* RuvB-like protein, *tih2p*, is required for cell cycle progression and RNA polymerase II-directed transcription. *J. Biol. Chem.*, Vol.275, No.29, 22409-22417.
4. T. Kotani, T. Miyake, Y. Tsukihashi, A. G.Hinnebusch, Y. Nakatani, M. Kawaichi, T. Kokubo (1998). Identification of highly conserved amino-terminal segments of dTAF_{II}230 and yTAF_{II}145 that are functionally interchangeable for inhibiting TBP: DNA interactions in vitro and in promoting yeast cell growth in vivo. *J. Biol. Chem.*, Vol.273, No.48, 32254-32264.
5. D. Liu, R. Ishima, K.I. Tong, S. Bagby, T. Kokubo, D.R. Muhandiram, L.E. Kay, Y.Nakatani, M. Ikura (1998). Solution structure of a TBP-TAF_{II}230 complex: Protein mimicry of the minor groove surface of the TATA box unwound by TBP. *Cell*, Vol.94, No.5, 573-583.
6. C.M. Drysdale, B.M. Jackson, R. McVeigh, E.R. Klebanow, Y. Bai, T. Kokubo, M.J. Swanson, Y. Nakatani, P.A. Weil, A.G.Hinnebusch (1998). The Gcn4p activation domain interacts specifically in vitro with RNA polymerase II holoenzyme, TFIID, and the Adap-Gcn5p coactivator complex. *Mol. Cell. Biol.*, Vol.18, No.3, 1711-1724.
7. T.Kokubo, M.J.Swanson, J-i.Nishikawa, A.G.Hinnebusch, Y.Nakatani (1998). The yeast TAF145 inhibitory domain and TFIIA competitively bind to TATA-binding protein. *Mol. Cell. Biol.*, Vol.18, No.2, 1003-1012.

埼玉医科大学グループ

1. Imai, K, Imazawa, Y., Yao, Y., Yamamoto, K., Hisatake, K., Muramatsu, M., Nogi, Y. (1999). The fission yeast *rpa17+* gene encodes a functional homolog of AC19, a subunit of RNA polymerase I and III of *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol. Gen. Genet.*, 261, 364-373.
2. Imazawa, Y., Imai, K. Fukushima, A., Hisatake, K., Muramatsu, M., Nogi, Y. (1999). Isolation and characterization of the fission yeast gene *rpa42+m* which encodes a subunit shared by RNA polymerase I and III. *Mol. Gen. Genet.*, 262, 749-757.
3. Ishiguro, A., Nogi, Y., Hisatake, K., Muramatsu, M., Ishihama, A. (2000). The Rpb6 subunit of fission yeast RNA polymerase II is a contact target of the transcription elongation factor TFIIS. *Mol. Cell. Biol.*, 20, 1263-70.
4. Wada, T., Orphanides, G., Hasegawa, J., Kim, D.-K., Shima, D., Yamaguchi, Y., Fukuda, A., Hisatake, K., Oh, S., Reinberg, D., Handa, H. (2000). FACT relieves DSIF/NELF-mediated inhibition of transcriptional elongation and reveals functional differences between p-TEFb and TFIID. *Mol. Cell*, 5, 1067-1072.

(2) 特許出願

「なし」

(3) 新聞報道等

「なし」

(4) その他特記事項

「なし」