

Title	マウスミエリン塩基性蛋白質遺伝子の転写制御とプロモーターの機能
Author(s)	三浦, 正幸
Citation	大阪大学, 1988, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/35955
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名・(本籍)	三	浦	正	幸
学位の種類	理	学	博	士
学位記番号	第	8074	号	
学位授与の日付	昭和63年3月25日			
学位授与の要件	理学研究科生物化学専攻 学位規則第5条第1項該当			
学位論文題目	マウスミエリン塩基性蛋白質遺伝子の転写制御とプロモーターの機能			
論文審査委員	(主査) 教授	御子柴克彦		
	(副査) 教授	中川 八郎	教授	小川 英行

論文内容の要旨

哺乳類中枢神経系はニューロン及びグリア細胞によって構成される複雑な細胞社会である。ニューロン-グリア相関の典型例としてミエリン形成が知られている。ミエリンは神経の電気信号の伝播を早める働きをするが, shiverer, mldといったミエリン形成不全マウスの解析からミエリン塩基性蛋白質(MBP)がミエリン形成に極めて重要な働きをしていることが明らかにされてきた。MBPは神経特異蛋白質の中で最も発現量の多い部類に属し, ミエリン形成の分子機構を明らかにするためのみならず, 神経特異蛋白質の発現調節機構を知るためにもMBP遺伝子の発現調節機構に興味を持たれた。

マウスではミエリン形成は生後2~3週にそのピークを迎えるが, この時期に一致して, MBP合成が盛んになることが知られている。ミエリン形成過程のMBP mRNAの量的変化は, MBP量の変化とよく対応し, またin vitro translation産物の量的変化もmRNA量の変化に対応したことからMBPの発現調節は主に転写段階にあることが明らかとなった。そこで次にマウスMBP遺伝子プロモーター領域の構造と機能を解析した。-100bp以内にTATA, CAAT, GCといった基本的な転写要素が存在し, -123にTGGA motif, -643にSV40エンハンサーコア類似の配列が見出された。上流1.3kbをE. coli lac Z遺伝子に連結し, 種々の株細胞にトランスフェクションし, transient assayによってプロモーターの細胞特異性を検討した。その結果MBPプロモーターは神経系由来の株細胞で発現しやすく, 特にニューロン-グリアの雑種細胞であるNG108-15で非常に高い活性を示した。種々の5'欠失変異体を用いた解析によりMBPプロモーターの効率のよい発現に-116付近の配列が重要であることが明らかとなった。DNase I footprinting assayにより, この領域に結合する細胞因子の存在が示され, 因子の結合する領域をMBTE (MBP Transcription Element) と名づけた。MBTEはN

G108-15において転写を上げる働きをするがNIH3T3では逆に下げる働きのあることが種々の mutant を用いた解析により明らかとなり、細胞特異的な転写要素であることが判った。脳初代培養細胞で MBTE を含む -206 までのプロモーター領域を持ったキメラ遺伝子を導入し発現をみると、オリゴデンドロサイト (MBP 産生細胞) で発現が認められたが、導入効率が悪いとその割合は少なかった。発現している大部分の細胞はアストロサイト (特にタイプ 2) であった。しかしながら、オリゴデンドロサイトとタイプ 2 アストロサイトが共通の前駆細胞 0-2A から分化することを考えると、MBTE も含めて -206bp 以内に細胞系譜特異的な発現に関係したシスに働く転写要素のあることが示唆された。

論文の審査結果の要旨

本研究は哺乳類中枢神経系において、ミエリン形成にあずかるオリゴデンドロサイトで特異的に発現するミエリン塩基性蛋白質 (MBP) 遺伝子の転写制御機構について詳しく解析したものである。哺乳類神経特異遺伝子の発現調節機構の解明は、複雑な神経系を構成する細胞の分化、形態形成の問題を解決する上で極めて重要なテーマと考えられるが、その研究は遅れており、転写レベルでの解析はほとんどなされていないのが現状である。著者が解析した MBP 遺伝子は神経特異遺伝子の中で最も発現量の多いものの一つであり、このような遺伝子を選択し、解析することにより、神経系特異的なプロモーター要素をみいだすことが可能となった。マウス MBP 遺伝子の発現を発育過程をおって調べると、ミエリン形成の盛んな生後 2~3 週にその発現が活発におきており、それらは翻訳可能なものであることが示され、MBP の発現調節は転写段階にあることが明らかとなった。MBP 遺伝子プロモーター領域の構造を決定し、機能解析を行った。transient assay により、MBP プロモーターは神経系の細胞で発現しやすく、特にニューロン、グリアの雑種細胞である NG108-15 で高い活性を示した。5' 欠失変異体による解析と DNase I フットプリンティングアッセイにより、-116bp 付近のシスエレメント (MBTE : MBP Transcription Element) とこれに働くファクターの存在が明らかとなった。MBTE は SV40 プロモーターの活性を NG108-15 では上昇させるが、NIH3T3 では変化させなかった。また MBTE のみの欠失変異体を用いた解析により、この領域は、NG108-15 ではプロモーター活性を上げる働きがあるのに対し、NIH3T3 細胞では活性を下げるなど細胞特異性を示すプロモーター要素であることが明らかとなった。MBTE を含む領域は初代培養系で前駆細胞を同じくするオリゴデンドロサイトとタイプ 2 アストロサイトによく発現し、前駆細胞系譜での発現に重要な働きをしていることが示された。

哺乳類神経特異遺伝子のプロモーターで、このような詳細な解析は、初めてのものであり、非常にユニークな研究展開をしている。理学博士の学位論文として十分価値あるものと認められる。