



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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

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 TGGCA 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N I H 3 T 3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、導入効率が悪いいため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遺伝子の発現を发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、N I H 3 T 3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、N I H 3 T 3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アストロサイトでよく発現し、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。

哺乳類神経系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。