



Title	Isolation of Complementary DANs Encoding a Cerebellum-enriched Nuclear Factor I Family That Activates Transcription from the Mouse Myelin Basic Protein promoter
Author(s)	井上, 貴文
Citation	大阪大学, 1992, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/37964
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	井上貴文
博士の専攻分野の名前	博士(医学)
学位記番号	第10178号
学位授与年月日	平成4年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学研究科 内科系専攻
学位論文名	Isolation of Complementary DNAs Encoding a Cerebellum-enriched Nuclear Factor I Family That Activates Transcription from the Mouse Myelin Basic Protein promoter (小脳に豊富に存在し、ミエリン塩基性蛋白質遺伝子の転写を活性化する、Nuclear Factor I ファミリーに属する転写因子群の単離と機能解析)
論文審査委員	(主査) 教授 矢内原千鶴子 (副査) 教授 谷口 維紹 教授 御子柴克彦

論文内容の要旨

(目的)

中枢神経系は非常に性質の異なるニューロンとグリアの2種類の細胞集団から構成され、さらにそれぞれの細胞集団は多数の種類に分かれている。これら細胞が緊密な相互連絡をとることにより高度な機能が発現するものと考えられる。脳を構成する細胞特異的な遺伝子発現機構を明らかにすることは、脳の構造と機能を理解する上で重要である。ミエリン塩基性蛋白質 (Myelin Basic Protein; MBP) は神経軸索鞘 (ミエリン) を構成する主要な脳特異的蛋白質である。ミエリンを構築しているオリゴデンドロサイトにのみ特異的に非常に豊富に発現しているため、脳特異的、細胞特異的な遺伝子発現調節機構の解析には最適と考えられる。既に MBP 遺伝子上流に存在するプロモーター領域に細胞特異性を決定する領域があり、転写因子の一つである NFI (Nuclear Factor I) が、特異的な転写に重要であることを明らかにしている。そこで本研究では、脳の NFI の構造を決定することにより、脳における NFI の特異性と多様性につき検討を加えて、MBP 遺伝子の特異的転写の機構を明らかにすることを目的とする。

(方法ならびに成績)

NFI は多様性に富む遺伝子ファミリーを形成しており、複数の遺伝子が存在すること、また、単一の遺伝子からのスプライシングパターンの違いにより、さらにサブタイプが存在することが報告されている。本研究では、NFI ファミリーの中に、MBP プロモーターの中脳神経系特異的な発現に寄与する、特異的なサブタイプの存在を仮定し、脳より NFI の cDNA の単離・解析を行った。

ラット肝より単離された NFI-L をプローブとして、マウス脳由来の cDNA ライブラリーをスクリー

ニングした。6種の独立したクローニングが得られ、NFI-B 1～6と命名した。塩基配列解析の結果、これらのサブタイプは、単一遺伝子から異なるスプライシングパターンにより生じたことが示唆された。

ノーザンプロット法及びRNAドットプロット法を用いて各種組織におけるNFI-BのmRNAの発現の分布を解析した。他の組織に比して非常に強い発現(20～30倍)が小脳においてみられた。NFIファミリーに属するNFI-Bとは異なるサブクラスであるCTF/NF-Iをプローブとしてノーザンプロット法を行い、NFI-Bの分布パターンと比較した結果、NFIファミリーの中でも、普遍的に存在するCTF/NF-Iとは対照的に、NFI-Bは組織により分布密度が異なり、組織特異的な役割を担っている可能性が示唆された。

NFI-B蛋白質とMBPプロモーターの結合様式を解析するために、ゲルシフト法を用いた。NFI-B蛋白質はin vitro転写・翻訳系を用いてcDNAより合成した。その結果、NFI-Bは特異的にMBPプロモーターのNFI結合領域に結合すること、C末端側の領域にDNA結合能があること、少なくとも2量体を形成してDNAと結合することがわかった。

MBPプロモーターの転写活性へのNFI-B蛋白質の作用を解析するために、培養細胞NG108を用いて強制発現実験を行った。NFI-Bを発現する発現ベクターと、MBPプロモーターの下流に大腸菌lacZ遺伝子を挿入したレポータープラスミドを調整し、両者を同時にNG108へ導入し、MBPプロモーターからの転写量を定量した。その結果、NFI-B蛋白質が存在することにより、MBPプロモーターからの転写量が非常に増加(5～8倍)することが明らかになった。

(総括)

転写因子NFIの脳からのcDNAクローニングとその塩基配列の決定を行い、脳において様々なタイプのNFIが発現していること、また小脳に大量に発現していることを明らかにした。更に脳のNFIは、MBP遺伝子のプロモーター上のNFI結合配列に結合することにより、その転写活性を増大させることを証明した。以上の事実は、NFIがオリゴンドロサイト特異的なMBP遺伝子発現に深く関わっていることを示すものである。一方、多くの遺伝子のプロモーター内にはNFI結合領域がみられるが、このことは、今回みいだした脳におけるNFIの多様性が、脳内で発現している他の遺伝子の特異的発現にも関与していることを示唆するものである。

論文審査の結果の要旨

本研究は、マウス脳において発現しているNuclear Factor I (NFI)のcDNAクローニングと一次構造の決定を行い、脳組織においては、選択的スプライシングによると考えられる多様なサブタイプのNFI分子が発現していることを明らかにし、機能的にもこのNFI分子は脳神経系で特異的に発現しているミエリン塩基性蛋白質(Myelin Basic Protein; MBP)遺伝子のプロモーター領域に結合し、転写活性の増大にtransに働くことを証明した。

NFIはすべての組織において発現している普遍的な因子であることが知られている。また、NFIは脳

内で特異的に発現している遺伝子の転写調節にも重要な役割を果たしていることが多くの例で明らかになっている。しかしながら普遍的な転写因子が脳内での特異的な転写活性に関与する分子機構については全く不明であった。本研究は、脳において NFI が選択的スプライシングに基づく多様なサブタイプを有することを明らかにし、この脳における NFI の多様性が、MBP をはじめとする、脳内で発現している遺伝子群の転写レベルの組織特異性に関与することを示唆しており学位論文に値するものと評価される。