

|              |   |
|--------------|---|
| Title        | Differentiation-dependent alternative splicing : Selection of muscle specific exon b in the NCAM gene |
| Author(s)    | 川東, 広幸  |
| Citation     |   |
| Issue Date   |   |
| Text Version | none  |
| URL          | <a href="http://hdl.handle.net/11094/39960">http://hdl.handle.net/11094/39960</a>                     |
| DOI          |   |
| rights       |   |
| Note         |   |

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

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

|            |   |
|------------|---|
| 氏名         | かわ 川 東 広 幸  |
| 博士の専攻分野の名称 | 博士(理学)  |
| 学位記番号      | 第 12943 号   |
| 学位授与年月日    | 平成9年3月25日   |
| 学位授与の要件    | 学位規則第4条第1項該当<br>理学研究科生物化学専攻   |
| 学位論文名      | Differentiation-dependent alternative splicing: Selection of muscle specific exon b in the NCAM gene<br>(分化に依存した選択的スプライシング: NCAM遺伝子の筋特異的エキソンbの選択) |
| 論文審査委員     | (主査)<br>教授 田嶋 正二<br><br>(副査)<br>教授 吉川 和明 教授 京極 好正   |

#### 論文内容の要旨

真核細胞生物では、一つの遺伝子から選択的スプライシングによって多様な mRNA が生成し、発現蛋白質の多様性を調節する機構の一つとして働いている。骨格筋組織でも分化に伴い種々の遺伝子で組織特異的な選択的スプライシングが見られ、Neural Cell Adhesion Molecule (NCAM) もそのひとつである。筋分化の誘導に伴って、エキソン12と13の間にある、a,b,c、3つのエキソンからなる筋組織特異的 (Muscle Specific Domain:MSD) エキシンの選択が顕著に増加する。しかしながら、現在までのところこのような分化に伴うスプライシングの変化の機構について脊椎動物ではほとんど解明されていない。

本研究では、分化に依存した選択的スプライシングの機構を明らかにすることを目標として、NCAM 遺伝子の MSD エキソン選択の調節を取り上げることとした。その結果、分化に依存したエキソン MSDb の選択に関わる領域をイントロン内に同定することができた。まず、この MSD エキソン領域の構造を知る目的で、エキソン MSDb とエキソン MSDc の位置とその周辺領域の構造および塩基配列の特徴を明らかにした。筋特異的なエキソンであるエキソン MSDb と MSDc のスプライス部位の塩基配列は、donor および acceptor 部位ともにコンセンサス配列と良く一致しており、他のエキソンと比較して特別な配列は存在しなかった。ついで、筋組織特異的な選択的スプライシングにシスに働く領域の特定、およびトランスに働く因子の有無を調べる目的で、NCAM 遺伝子のエキソン及びその隣接するイントロンからなるミニ遺伝子を作製し、マウス線維芽細胞、筋芽細胞等に強制発現させ、mRNA を RT-PCR 法により解析した。エキソン MSDb の上流及び下流のイントロンの欠失体の解析から、エキソン MSDb の下流に存在する 310bp にわたるイントロン領域が線維芽細胞でのエキソン MSDb の選択を抑制している事を見いだした。この阻害は配列特異的で、組織特異的なものであった。骨格筋の分化因子である MyoD を線維芽細胞の C3H10T1/2 細胞に強制発現させると、線維芽細胞は筋芽細胞に分化するが、この時のミニ遺伝子のエキソン MSDb の選択を調べたところ、分化と共にエキソン MSDb の選択率が増加した。エキソン MSDb の選択抑制の解除は MyoD の発現、つまり線維芽細胞が筋芽細胞に分化することに依存することから、この領域を Differentiation state-dependent Splicing Regulatory Element (DSRE) と名づけた。DSRE は実際の筋分化においても機能していることが示唆された。DSRE を大量に強制発現させた実験等から DSRE に結合する未知の因子が存在すること、またこの因子はスプライシングに必須な基本因子複合体と挙動を共にしていることが予想された。

## 論文審査の結果の要旨

同一遺伝子であるにも関わらず、組織・分化段階特異的にエクソンの選択が変化し、新たな遺伝子産物が産生される機構を選択的スプライシングと呼ぶ。川東広幸君は哺乳類における選択的なスプライシングの分子機構について明らかにすることを目的として、骨格筋の分化段階に特徴的な選択的スプライシングをおこなうNCAM遺伝子を材料として研究をすすめた。その結果、骨格筋細胞および分化段階特異的にエクソンの選択を調節する領域を同定することに成功した。本論文は選択的スプライシングの調節機構について重要な新しい知見をつけ加えるものであり、博士(理学)の学位論文として十分価値のあるものと認める。