The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Localization of mRNAs for Rlim-1, the rat Xlim-1 homolog, in the developing rat brain
Author(s)	古山, 達雄
Citation	大阪大学, 1996, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/40478
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

【 32 】

氏　　名	古山達雄（ふるやまたつお）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学位記番号	第　12682　号
学位授与年月日	平成8年9月19日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位論文名	Localization of mRNAs for Rlim-1, the rat Xlim-1 homolog, in the developing rat brain （発達過程ラット脳におけるラット lim1ホモローグの分布）
論文審査委員	（主査） 教授　遠山　正彌 （副査） 教授　米田　悦啓　　教授　三木　直正

論文内容の要旨

目　的　lim ホメオドメイン蛋白は2つの lim ドメインとホメオドメインを持つ転写因子ファミリーであり，細胞の特異性の獲得などに重要な役割を果たしている。そのうちに lim1蛋白は神経系の形成期に二相性の発現ピークを持つことが知られている。最初のピークは発生の初期にみられ前頭部の誘導過程に重要な役割を果たしている。第二ピークは発生後期に神経系の発達過程に一致して認められる。この時期における神経系での lim1の機能を知るためその脳内分布を調べた。

方法と成績　ラット lim1を単離するため PCR を行った。胎生14日のラット脳より mRNA を抽出し逆転写酵素により cDNA を合成しこれを鋳型とした。また lim 型ホメオドメイン間で保存性の高いアミノ酸配列に対する縮退プライマーを用いた。通常の PCR によって得られた180 bp のフラグメントを T-ベクターにつなぎ dye-terminater 法で配列を呼んだところ Xenopus で単離されていた Xlim-1と極めて相同性の高いフラグメントを得た。これをプローブとして生後2-3週齢ラット脳ライブラリーをスクリーニングし約1.2 kb の ORF を含むクローンを単離した。406個からなるアミノ酸配列を Xlim-1のそれと比較したところ lim ドメイン，ホメオドメインにおいて99%以上，他の領域においても80-90%の一致を示した。このことからこのクローンは Xlim-1のラットホモローグであると考えられた。特異性が高いと考えられる2番目の lim ドメインとホメオドメインの間を認識する50 bp のオリゴプローブを合成し，[α-^{35}S]-dATP で3′ エンドラベルした。Wister 系ラット胎生14，16，18，生後1，7，14，21，adult の脳を取り出した後，直ちにドライアイスで凍結し，クリオスタットで14 μm の凍結切片を作製し，in situ hybridization 法に供した。胎生14日で既に陽性シグナルを認めた。これ以降の発現パターンは胎生14日とおおよそ同一であったが，発達に伴って徐々にシグナル強度の減少を認めた。また領域特異的な分布パターンを認めた。前脳において最表層に陽性シグナルを認め，この陽性細胞によって前脳全体が覆われていた。特に大脳皮質においては陽性細胞は第1層に存在し Cajal-Retius 細胞であると考えられた。間脳域においては腹側視床と背側視床の境界である zona limitans intrathalamica と腹側視床に陽性シグナルを認めた。また視床下部の視交叉上核，乳頭体などにも陽性シグナルを認めた。中脳から尾側には脊髄にいたるまで広範に陽性細胞を多数認めた。小脳においては発達過程に伴って陽性細胞の分布が次第に

限局していく特徴的な発現パターンを示した。初期には小脳全体に認められるが，次にはプルキンエ細胞と外顆粒細胞に，さらにはプルキンエ細胞のみに陽性シグナルが限局していった。外顆粒細胞層から内顆粒細胞層へ移動中の顆粒細胞は陽性を示した。

総　括　ラット lim1は Xenopus の Xlim-1とホメオドメイン及び lim ドメインにおいて99%以上のアミノ酸レベルでの一致を示しこれらの領域が lim1機能の発揮に重要であることが示された。またその分布から大脳皮質の層形成，視床における領域形成及び小脳顆粒細胞の移動などに関係する蛋白の転写調節に関与していることが示唆された。

論文審査の結果の要旨

lim ホメオドメイン蛋白は lim ドメインとホメオドメインを有する転写因子であり細胞の分化，細胞の特異性の維持に関係することが知られている。そのメンバーである lim1は発生初期と神経系の発達期に発現ピークを示す。本研究では神経系発達期における lim1の機能を明らかにするため，lim1のラットホモローグを単離するとともに，その発達過程脳内における分布パターンを in situ hybridization 法を用いて調べた。その結果，胎生14日で既に中脳より尾側，前脳の最も表層，腹側，背側視床の境界に発現を認めその分布パターンは発達過程にともなって減弱していくこと，また小脳においてはプルキンエ細胞が成体にいたるまで持続的に発現する一方で顆粒細胞は外顆粒細胞層から内顆粒細胞層に移動するに伴って発現が停止することを明らかにした。これらのことから lim1は一部の神経細胞の分化及び形質の維持，境界形成，細胞の移動，層形成への関与する可能性を示唆した。本研究は lim1の神経系形成期における機能解明への手かがりを与えるものであり学位に値するものと考えられる。