



Title	Molecular cloning and distinct developmental expression pattern of spliced forms of a novel zinc finger gene wiz in the mouse cerebellum
Author(s)	松本, 和政
Citation	大阪大学, 1999, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/41137
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	まつもと かず まさ 松 本 和 政
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 4 7 9 0 号
学 位 授 与 年 月 日	平成11年3月25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	Molecular cloning and distinct developmental expression pattern of spliced forms of a novel zinc finger gene <i>wiz</i> in the mouse cerebellum. (新規亜鉛フィンガー遺伝子 <i>wiz</i> のクローニングとそのスプライス産物の発生過程マウス小脳における遺伝子発現)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 遠山 正彌 (副査) 教 授 三木 直正 教 授 米田 悦啓

論 文 内 容 の 要 旨

【目的】

脊椎動物の神経系には、形態学的・生理学的に異なる様々なタイプの神経細胞が存在している。これら神経細胞のタイプの特異化とその細胞系譜の維持には、特定のタイプの神経細胞に特異的に発現する転写調節因子が重要な役割を果たすと考えられるが、その分子機構は明らかではない。私はショウジョウバエ遺伝子 *eyes absent* (*eya*) のマウスホモログを単離する過程で、*eya* マウスホモログに加えて、既知の遺伝子とは相同性のない新規遺伝子断片の単離に成功した。この新規遺伝子断片は、亜鉛フィンガーモチーフをコードしており、成熟マウス脳では嗅球・海馬歯状回・小脳の顆粒細胞層にのみ発現していたことから、これら顆粒細胞のタイプの特異化に関する転写調節因子ではないかと考え、この新規遺伝子の全長のクローニングと発生過程マウス脳における発現部位の検討を試みた。

【方法ならびに成績】

最初に得た新規遺伝子断片は、ショウジョウバエ *eya* の塩基配列をもとに作成したオリゴヌクレオチドプローブで生直後マウス脳 cDNA ライブラリーをスクリーニングすることにより単離した。この遺伝子断片をプローブとしたスクリーニングと 5' RACE 法により、2種類の全長 cDNA を得た。短い方の cDNA は長い方の cDNA が一部欠失したものであり、この2種の cDNA は単一遺伝子からの異なるスプライス産物であると考えられた。どちらの cDNA も飛び石状に点在する亜鉛フィンガーモチーフをコードしていることから、この遺伝子を *wiz* (widely - interspaced zinc finger) と名付け、長い方の転写産物を *wizL*、短い方を *wizS* と命名した。*wizL* は10個、*wizS* は5個の飛び石状に点在する C₂H₂ 型の亜鉛フィンガーモチーフを持ち、どちらも核内移行シグナルのコンセンサス配列を有することから、核内で DNA に結合する転写調節因子であると考えられた。

両転写産物を認識できるプローブを用いてノザンプロットを行ったところ、*wizL*、*wizS* の mRNA の発現はともに脳特異的であり、胎生中期から成熟期に至るまで一貫して発現しているものの、周生期に比較的高い発現を示した。

次に、*wizS*、*wizL* をともに認識するプローブ (プローブ SL) と *wizL* のみを認識するプローブ (プローブ L) の2種類のプローブを用いた *in situ* hybridization 法により、発生過程マウス脳における両転写産物の発現パターンを調べた。両プローブによる陽性シグナルの分布は極めて類似していた。胎生期脳においては、嗅球・海馬・小脳に加えて終脳や中脳にもシグナルが観察されたが、生後になると大脳や中脳における発現は減少し、生後10日目以降に

おける発現部位は嗅球・海馬歯状回・小脳の各顆粒細胞層に局限していた。

両プローブによる陽性シグナルは小脳においてのみ顕著な差がみられた。プローブSLによる陽性シグナルは胎生16日齢の小脳原基の外顆粒細胞層に初めて確認され、以後成熟期に至るまで一貫して外及び内顆粒細胞層においてのみ観察された。これに対し、プローブLによる小脳における陽性シグナルは胎生期及び周生期には認められず、成熟期になって初めて顆粒細胞層において観察された。この結果と、周生期と成熟期のさまざまな脳領域から調製したRNAを鋳型として特異的プライマー対を用いて行ったRT-PCR法の結果から、小脳以外の脳領域では発生過程を通じて *wizS* と *wizL* がともに発現しているのに対し、小脳では胎生期・周生期には *wizS* のみが、成熟期には両方が発現していることが明らかとなった。

【総括】

私が単離した新規遺伝子 *wiz* は飛び石状に点在する C_2H_2 型の亜鉛フィンガーモチーフをコードしている。通常の C_2H_2 型亜鉛フィンガーは相同性の高い7アミノ酸から成る短い領域で結ばれているが、*wiz* の亜鉛フィンガー間の距離は16-258アミノ酸と極めて長い。脊椎動物ではこのようなタイプの亜鉛フィンガー蛋白質は数種類しか知られておらず、生理的な役割は未知である。しかしながら、植物におけるこのタイプの亜鉛フィンガー因子は実際にDNAに特異的に結合することから、*wiz* もDNAに結合する転写調節因子であると考えられる。

wiz の発現は成熟期に至ると嗅球・海馬歯状回・小脳の顆粒細胞に局限してくる。これら3領域の顆粒細胞は、神経伝達物質などの点で違いがあるものの、ともに細胞体の小さいニューロンであり、密に詰まった細胞層を形成することや生後も増殖することなどの共通点も多い。加えて *wiz* 以外にもこれら3領域の顆粒細胞群に局限して発現するRU49という転写調節因子が存在すること、および移植実験によりこれら3領域の顆粒細胞には互換性があることから、この顆粒細胞群の特異化には共通の分子機構が働いており、*wiz* はRU49などとともにその一翼を担うものと考えられる。

発生過程小脳における *wizS* と *wizL* の発現パターンは、*wizS* が小脳顆粒細胞の分化に関わるのに対し、*wizL* は分化の終了した顆粒細胞においてその細胞系譜の維持に関わる可能性を示唆する。小脳顆粒細胞は菱脳唇と呼ばれる領域から発生する。胎生13-14日目に菱脳唇の細胞は小脳原基の表層へと移動し、外顆粒細胞層を形成する。顆粒細胞への運命決定はこの移動以前になされているが、他の顆粒細胞の分化を誘導する能力は表層への移動後に獲得することが知られており、これは *wizS* の発現開始時期と一致していることから、*wizS* は分化誘導能力の獲得に関わる可能性がある。

論文審査の結果の要旨

本論文は、独特な亜鉛フィンガーモチーフを有する蛋白をコードする新規遺伝子をクローニングし、その2種類の転写産物のマウス神経発生における発現の経時変化を明らかにしたものである。生後のマウス脳における本遺伝子の発現パターンは、共通の分化機構を持つと考えられる神経細胞群にはやはり共通して発現する転写調節因子が存在することを示唆しており、解析の進んでいない神経細胞のタイプの特異化に関わる分子機構の研究に大きな前進をもたらした。以上のことから、本論文は博士(医学)の学位授与に値するものであると考えられる。