OUKA
Osaka University Knowledge Archive

Title	Molecular cloning and analysis of the mouse gicerin gene
Author(s)	小浜, 恵子
Citation	大阪大学, 2005, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/45461
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。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名	小浜恵子（こはまけいこ）
博士の専攻分野の名称	博士（医学）
学位記番号	第 19243 号
学位授与年月日	平成17年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科情報伝達医学専攻
学位論文名	Molecular cloning and analysis of the mouse gicerin gene （マウスギセリン遺伝子のクローニングとその解析）
論文審査委員	（主査） 教授 三木 直正 （副査） 教授 吉川 和明　教授 遠山 正彌

論文内容の要旨

［目的］

ギセリンは免疫グロブリンスーパーファミリーに属する細胞接着分子であり、ヒトメラノーマ細胞で発現するMUC18/CD146のホモローグである。ギセリンは細胞内領域の長さの違う2つのアイソフォームをもつ。過去の実験結果によると、ギセリンは神経系の発生初期および神経損傷後の再生時に発現が増加する。またギセリンは細胞の移動や神経伸長にも関与することが知られている。しかしギセリン遺伝子の発現機構は不明であり、ギセリン遺伝子の発現制御を明らかにすることは神経系の発生や再生機構を解明する手がかりとなる。そこで、本研究で、ギセリン遺伝子のクローニングと、神経系培養細胞を用いたギセリンの発現制御機構を検討した。

［方法ならびに成績］

〈ギセリン遺伝子のクローニング〉

プラークハイブリダイゼーション法を用い、マウスλFIXII ゲノムライブラリーから、ギセリン遺伝子を含む全長約16 kbpの遺伝子をスクリーニングした。それを解析したところ、ギセリン遺伝子をコードする 8 kbpは16個のエクソンで構成され、エクソン2～13は免疫グロブリンループを、エクソン14は細胞膜貫通部位を、エクソン15、16は細胞内領域をコードしていた。またギセリンの2つのアイソフォームはエクソン15の選択的スプライシングによるものであった。ギセリン遺伝子のプロモーター領域は、TATAを持たないが、CREと3つのSpl部位を有していた。

〈ギセリン遺伝子の発現誘導と発現制御領域〉

細胞内cAMP濃度によって転写因子のCREへの結合能が変化することが知られている。そこでギセリンを内因的に発現しているPC12細胞を用い、定量的PCR法でフォルスコリンによるギセリンmRNA発現変化を検討した。ギセリンのmRNAの発現誘導はフォルスコリン刺激後約24時間にわたって持続し、4時間で約4倍の最大増加値を示した。次にルシフェラーゼアッセイ法を用い、フォルスコリンによるギセリン遺伝子の発現制御責任領域を検討した。ギセリン遺伝子上流130 bpにおいて、Sp1領域をひとつづつ削除したもの、CREのみのもの、CREを持たないもの等の欠失変異体を作成したところ、責任領域はCRE領域にあることが明らかとなった。またこのルシフェラーゼ活

性はプロテインキナーゼAの阻害薬H89で抑制されることから、ギセリン遺伝子発現にはPKAを介するシグナル伝達経路の関与が示唆された。

［総括］
ギセリン遺伝子は16個のエクソンで構成され、ギセリンの2つのアイソフォームはエクソン15の選択的スプライシングによるものであった。PC12細胞において、フォルスコリンによるmRNAの発現誘導は刺激後約4時間で4倍の最大値を示した。ギセリン遺伝子のプロモーター解析結果より、フォルスコリンによるcAMPを介するギセリンの発現責任領域は上流−53 bpのCRE領域にあること、またそのシグナル伝達経路にはPKAが関与することを明らかにした。

論文審査の結果の要旨

ギセリンは免疫グロブリンスーパーファミリーに属するタイプI型の細胞接着分子であり、細胞内領域の長さの異なる2つのアイソフォームを持つ。ギセリンの発現は神経系の発生過程や神経の再生時に強くみられ、細胞の移動や神経伸長にも関与することが知られている。しかし、ギセリン遺伝子の発現機構は不明である。そこで、マウスギセリン遺伝子のゲノミッククローニングを行いその塩基配列を検討したところ、ギセリンは16個のエクソンで構成され、2つのアイソフォームはエクソン15の選択的スプライシングで形成されていた。また、PC12細胞において、フォルスコリン刺激後4時間でギセリンのmRNA量が4倍増加し、このギセリン遺伝子発現誘導の責任領域は上流−43 bpのCRE領域にあり、シグナル伝達経路にはプロテインキナーゼAが関与していた。本研究は、ギセリン遺伝子の発現制御機構を明らかにしたもので、神経系の発生や再生機構を解明する手がかりとなるものであり、学位に値すると考える。