



Title	Variation of CNR/Pcdh α transcripts in a single neuron
Author(s)	江角, 重行
Citation	大阪大学, 2005, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/45642
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 江 角 重 行

博士の専攻分野の名称 博 士 (理 学)

学 位 記 番 号 第 19225 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

理学研究科生物科学専攻

学 位 論 文 名 Variation of *CNR/Pcdh α* transcripts in a single neuron
(単一神経細胞における CNR/プロトカドヘリン α 遺伝子発現制御機構の
解析)

論 文 審 査 委 員 (主査)

教 授 八 木 健

(副査)

教 授 近 藤 寿 人 教 授 永 井 克 也

論 文 内 容 の 要 旨

脳神経系は多様化した細胞種が高度に組織化されたシステムである。それぞれの神経細胞が異なった神経回路を築くためには、個々の神経細胞レベルでの多様化が起こっていることが考えられる。脳神経系で強く発現する多様化膜分子群である *CNR/Pcdh α* 遺伝子は、ゲノム上で遺伝子クラスター構造をもっており *CNR/Pcdh α* 、 β 、 γ とタンデムに並んだ最も上流に位置している。また、可変領域 exon のうち 1 つと、共通領域の exon が splicing して mRNA が産生されることがわかっている。これまでに個々の神経細胞において *CNR/Pcdh α* 遺伝子の可変領域 exon は異なる発現をしていることが明らかになっているが、染色体レベルでの発現制御については不明であった。そこで私は、マウス単一神経細胞における *CNR/Pcdh α* 遺伝子の発現制御を C57BL/6 (B6) と MSM との F1 マウスを用いて対立染色体レベルで解析した。

生後 5 日齢の脳皮質の細胞を用いた single-cell RT-PCR では、cDNA が少ないため十分な検証ができず、本研究では大型で mRNA を大量に含んでいる小脳プルキンエ細胞を用いて解析を行った。小脳プルキンエ細胞の *CNR/Pcdh α* 遺伝子の発現を調べるために B6 マウス小脳に対して In situ hybridization 法を用いた解析を行った。その結果、生後 21 日齢の小脳プルキンエ細胞全てで強い *CNR/Pcdh α* の発現シグナルを確認することができた。また、それぞれの *CNR/Pcdh α* アイソフォームのプロープでは、一部のプルキンエ細胞でのみシグナルが確認された。この結果は各小脳プルキンエ細胞において、*CNR/Pcdh α* アイソフォームの発現が異なっている可能性を示唆していた。そこで、分注 single-cell RT-PCR 法を用いて、生後 21 日齢の F1 マウスの小脳プルキンエ細胞における *CNR/Pcdh α* アイソフォームの発現解析を行った。その結果、単一神経細胞において *CNR/Pcdh α* アイソフォームは複数種類発現していることがわかった。興味深いことに、各 *CNR/Pcdh α* アイソフォームの多くは対立染色体の片方のみに由来していた。これらの結果から、*CNR/Pcdh α* アイソフォームの発現は各染色体単位で独立して制御されており、単一神経細胞では両方の染色体が別々に使われていることが明らかになった。

本研究から、単一神経細胞レベルにおいて *CNR/Pcdh α* 遺伝子の可変領域の発現には多様化した遺伝子発現を行う分子メカニズムがあることがわかった。*CNR/Pcdh α* 遺伝子は、これまでに知られている 3 つのタイプ (X 染色体不活性化、genomic imprinting, allelic exclusion) とは異なり、各染色体単位で独立して発現制御されており、単一神

経細胞レベルでは両方の染色体が別々に使われている (allelic and combinatorial expression) という新しい allelic な発現調節機構であることが示唆された。これらの結果は、個々の多様化した神経細胞間の回路形成によって成り立つ脳神経系システムを理解する上で重要な知見であると思われる。

論文審査の結果の要旨

多様化したプロトカドヘリン α 遺伝子群は脊椎動物の脳において発現している。そのゲノム構造は、免疫グロブリン (Ig) や T 細胞受容体 (TCR) 遺伝子と同様に、多数の可変領域エキソンと 1 組の定常領域エキソンを含んでおり、ニューロンの識別にこの多様性が利用されている可能性がある。本研究において申請者は、マウスの C57BL/6 系統と MSM 系統を識別する遺伝的多型を利用し、個々のニューロンにおけるプロトカドヘリン α 遺伝子クラスターの対立染色体における発現様式を解析した。単一のプルキンエ細胞を分注して RT-PCR 反応を行う解析により、プロトカドヘリン α 遺伝子はそれぞれの可変領域エキソンが片側対立染色体に由来しており、また複数の組合せ発現をしていることが示された。

この報告は、多様な受容体ファミリーでの対立染色体発現制御が中枢神経系で観察された最初の知見である。プロトカドヘリン α 遺伝子のもつ多様な可変領域エキソンで対立遺伝子が組み合わさって発現することは、脳におけるニューロンの独自性を特徴づけるための機構である可能性がある。これらの内容は脳神経科学や分子生物学分野に大きく貢献するものであり、博士 (理学) の学位論文に十分値するものであると認める。