

氏 名 佐 波 理 恵

学位（専攻分野） 博士（理学）

学 位 記 番 号 総研大甲第634号

学位授与の日付 平成14年9月30日

学位授与の要件 生命科学研究科 遺伝学専攻

学位規則第4条第1項該当

学 位 論 文 題 目 *Mammalian BarH Homolog(MBH)1* 遺伝子の発現制御機構

論文審査委員 主 査 教授 城石 俊彦  
教授 佐々木 裕之  
教授 廣海 健  
助教授 平田 たつみ  
研究ユニ 田辺 康人（（株）三菱化学生命科学研究所  
ットリー  
ダー  
)

## 論文内容の要旨

脊椎動物の神経系を構成する高度に機能分化した非常に多様な神経細胞群は、発生過程における細密な分化決定機構から派生しており、この機構には、多くの転写因子群が重要な働きを担っている。Mammalian BarH Homolog (MBH)1 は、神経分化を制御する bHLH 遺伝子 Mash1 と Neurogenin2 の転写制御能をもつ Bar クラスホメオドメインタンパク質であり、発生過程において、分化状態の異なる多様な神経細胞での発現が検出されている。本論文では、Mammalian BarH homolog (MBH)1 遺伝子の発現制御機構を解明することを目的として、マウスゲノムをクローニングしてその構造を明らかにし、転写調節領域の探索を行った。更に、脊髄発生過程において MBH1 遺伝子を発現する神経細胞の解析を通して、MBH1 遺伝子が神経分化過程において果たす役割について考察を行った。

マウスゲノムのクローニングからは、ORF 全長と 4.5 kb の上流域、13.5 kb の下流域を含む 22.5 kb の MBH1 ゲノム領域を同定し、そのエクソン構造を明らかにした。更に、5' RACE 法により MBH1 遺伝子のプロモーター構造を明らかにした。また、ホメオドメインのアミノ酸配列比較により Bar クラスホメオドメイン蛋白質は、Barx グループのホメオドメインタンパク質と異なる由来を持つことを示した。転写調節領域の探索からは、クローニングしたマウス MBH1 ゲノム中より、発生過程で後脳・脊髄での分化、移動中の神経細胞での MBH1 mRNA の発現を反映する 2.5kb 3' エンハンサー領域を同定し、その中に転写調節に主要な役割を果たすシスエレメントとして、bHLH 型転写因子の結合配列である E-box を見出した。この結果から、MBH1 遺伝子が bHLH 型転写因子 MATH1 の直接の標的である可能性が示唆された。さらに、脊髄発生過程において、MBH1 遺伝子は、蓋板付近で生じる MATH1 陽性細胞群から派生する D1 型介在神経細胞群において発現しており、MBH1 タンパク質陽性細胞は、交連性軸索を伸長することを明らかにした。また、脊髄で MBH1 タンパク質を強制発現させることにより、TAG-1、DCC タンパク質陽性の異所的な交連性介在神経細胞が発生するという事実から、MBH1 タンパク質が交連性神経細胞への分化を制御する機能を持つことが示唆された。

本論文で得られた結果は、いずれも神経分化を制御する分子メカニズムを考察する上で、より具体的な情報を与えるものであり、bHLH 蛋白質による神経

細胞への分化決定より、細胞の移動、標的への軸索伸長までの一連の神経細胞分化過程の制御機構を解明するための重要な手がかりが得えるものである。

## 論文の審査結果の要旨

Drosophila Bar クラスホメオティックドメインタンパク質遺伝子の mammalian homolog である MBH1 遺伝子は、神経細胞の分化を制御する bHLH 型転写因子の転写制御として働くことが知られている。しかし、MBH1 遺伝子の発現制御機構や神経細胞分化に果たす機能については不明の点が多い。

佐波さんは、この MBH1 遺伝子の発現制御機構と神経分化における機能を解明することを目的として、以下の二つの研究を行った。

(1) MBH1 遺伝子のゲノム構造を明らかにした。さらに、lacZ レポーター遺伝子を導入したトランスジェニックマウスを用いて解析し、MBH1 遺伝子の 3' 非翻訳領域に後脳・脊髄での発現を制御するエンハンサー領域を同定した。そして、このエンハンサー中に見出された E-box が後脳・脊髄での転写制御に主要な役割を担うシスエレメントであることを明らかにした。

(2) 次に、特異的マーカーを用いた免疫組織化学的解析により、MBH1 発現細胞が神経管の背側から分化する D1 型介在神経細胞であることを同定した。この細胞は bHLH 型転写因子 MATH1 を発現する前駆細胞から生じることが知られており、E-box 配列が MATH1 タンパク質の直接の標的である可能性を提示した。さらに、MBH1 発現細胞が交連性軸索を伸長していることを明らかにし、MBH1 が交連性神経細胞への分化制御を行っている可能性を示した。

以上の結果は、bHLH 蛋白質の発現制御機構の解明や神経細胞への分化決定、標的への軸索伸長に至る一連の神経細胞分化過程の分子メカニズムを解明するため重要な手がかりを与えるものと評価された。

公開発表の後の質疑応答で、佐波さんは、いずれの質問に対しても的確に回答し、関連分野の知識と理解が学位取得の水準を満たすものと判定した。また、要旨が的確な英語で書かれており、本論文の一部は、申請者を筆頭著者として英文誌に投稿していることから、英語による論文記述の能力も充分と判断した。以上総合的にみて、本論文は、学位を授与するのに値するものと審査員全員で判定した。