

| | | | |
|---------|---|------|-------|
| 氏名(本籍) | 佐塚隆志(静岡県) | | |
| 学位の種類 | 博士(理学) | | |
| 学位記番号 | 博甲第1079号 | | |
| 学位授与年月日 | 平成5年3月25日 | | |
| 学位授与の要件 | 学位規則第5条第1項該当 | | |
| 審査研究科 | 生物科学研究科 | | |
| 学位論文題目 | Identification of Novel Developmentally Regulated Genes in Mouse Central Nervous System (マウス中枢神経系の分化に伴って発現する新しい遺伝子の同定) | | |
| 主査 | 筑波大学教授 | 理学博士 | 岡田益吉 |
| 副査 | 筑波大学教授 | 理学博士 | 柳澤嘉一郎 |
| 副査 | 筑波大学教授 | 理学博士 | 斉藤建彦 |
| 副査 | 癌研究所部長 | 医学博士 | 野田亮 |

論文の要旨

本論文は、ハツカネズミの胚発生過程で神経細胞の分化に関与する遺伝子の単離同定を最終目標とした研究に関するものである。神経細胞の決定・分化に必要な遺伝子の研究は、ショウジョウバエにおいてまず行われはじめたが、ハツカネズミはヒトと同じ哺乳類に属する動物であり、ヒト神経系の発生学の基礎を与えるものとして、その重要性が指摘されている。

ショウジョウバエの10倍以上のDNAを持つとされるハツカネズミにおいて、特定の遺伝子をクローニングするためにショウジョウバエと同じ作戦を採用するわけにはいかない。そこで著者は、神経分化において鍵となる遺伝子は神経組織の形態的分化以前に発現を開始し、形態的分化開始後は発現が減衰するという作業仮説をたて、神経前駆細胞から構築したcDNAライブラリーより、この条件を満たすcDNAのみを選別した。その結果それまで全く知られていなかった2種の遺伝子(ndpp-1およびdrg)をクローニングすることに成功し、そのcDNAの構造及びその塩基配列より推測されるタンパク質、発生過程における遺伝子発現時期、発現する組織などを解析した。

1) ndpp-1

4334塩基対よりなる遺伝子で、その塩基配列より分子量約41.3kDaの、プロリンを豊富に含んでいるタンパク質をコードしていると推測される。この遺伝子のmRNAの非翻訳領域(3' untranslated region)には、mRNAを不安定化して早期に分解するよう働くタンパク質が結合するモチーフとして知られている配列(ATTTA)が7箇所が存在する。これは、この遺伝子をクローニングする際に想定した、神経細胞分化開始後速やかにその働きが終息する遺伝子であることと強く相関する性

質を保証するものである。

この遺伝子の発現様式を培養細胞において検定した。培養液にNGFあるいはレチノイン酸などを加えることにより任意に神経細胞に分化せしめることが可能な培養細胞において、未分化状態と分化した後のmRNA量を比較したところ、未分化細胞に遥かに多く存在することが分かった。しかし、この遺伝子は胚以外でも、成獣の心臓及び精巣においても発現することが判明した。この理由は不明である。またこの遺伝子には数種類の転写産物があり、これはスプライシング位置の違いによることを確認した。

ndpp-1 遺伝子はハツカネズミからクローニングされたものであるが、他の脊椎動物にも類似の遺伝子があることが確認された。特にラットとヒトは極めて類似した遺伝子があり、また、サル、イヌ、ウシ、ウサギなどの哺乳類、さらに鳥類ではニワトリにも類似の遺伝子が存在することをも明らかにした。このことは、この遺伝子が脊椎動物に普遍的に存在する重要な遺伝子であることを示唆している。

2) drg

cDNAとして1560塩基対からなり、予測される転写産物は分子量約40.5kDa等電点9.53の塩基性タンパク質であり、その大きな特徴はGTPと結合する領域を5ヶ所持っていることである。ndpp-1と同じく胚発生後期で一度発現が終息するものの、成獣において再び一部の組織（精巣、膵臓、脾臓、胸線など）で発現がみられた。

本研究において見いだされた2つの遺伝子は共に神経細胞分化の初期過程で発現し、以後急速に終息するものであり、胚発生過程で未分化な細胞が神経細胞という特定の細胞に分化する際にその働きを必要とする遺伝子群に属すると思われる。本研究で発見された遺伝子のコードするタンパク質が神経細胞分化においていかなる働きをしているかは今後の研究で明らかにされるであろう。

審 査 の 要 旨

哺乳類における神経系の研究は、ヒト脳の研究の基礎として重要視されている。著者は哺乳類の1種であるハツカネズミの胚において、神経細胞分化の初期過程で発現し、以後速やかに終息する遺伝子こそが神経分化に重要なものであるという仮説を立てて遺伝子を探索した。その結果、2種の新遺伝子をクローニングすることに成功し、その構造と発現時期、発現する細胞などについて詳細に解析した。本論文は哺乳類の神経細胞分化の初期過程で発現する遺伝子を解析した先駆的研究を述べたものであり、哺乳類の神経細胞の決定・分化を支配する遺伝子の研究の方向を示したものとして高く評価される。

よって、著者は博士（理学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。