

氏 名	にしむらまさたか 西村正高
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 2201 号
学位授与の日付	平成 12 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	医 学 研 究 科 生 理 系 専 攻
学位論文題目	Structure, Chromosomal Locus, and Promoter of Mouse <i>Hes2</i> Gene, a Homologue of <i>Drosophila hairy</i> and <i>Enhancer of split</i> (ショウジョウバエの <i>hairy</i> と <i>Enhancer of split</i> のホモログである, マウス <i>Hes2</i> 遺伝子の構造, 遺伝子座およびプロモーターに関する研究)

論文調査委員 (主 査)
教 授 笹 井 芳 樹 教 授 芹 川 忠 夫 教 授 中 西 重 忠

論 文 内 容 の 要 旨

哺乳類の神経系の発生, 分化機構を探る目的で我々の教室ではショウジョウバエのペアルール遺伝子産物の一つであるヘリックス・ループ・ヘリックス型転写因子 *hairy* と相同性の高いラット因子 *Hes* ファミリーを同定し, 解析を行ってきた。

これまでの研究で, 他の *Hes* 関連因子と異なり *Hes2* は, N box よりも E box に結合しやすく, 蛋白質間の相互作用を介した他の bHLH 因子の機能的阻害を行わないという特徴があることが調べられている。

一方, 脳神経系の発生過程では, 比較的均一な神経前駆細胞 (幹細胞) から極めて多様性に富んだニューロンやグリア細胞が分化する。最近の解析からこの過程で, *Hes1* は, 膜蛋白 Notch の下流で働き, 細胞の分化を抑制する働きがあることが示唆されているが, 現在同定されている 4 種類 (*Hes1, 2, 3, 4*) の *Hes* 因子の内, *Hes1* 以外のどの *Hes* が, Notch の下流で機能するかはよく分かっていなかった。

これらをふまえて, *Hes* 遺伝子ファミリーの構造および機能についてより良く理解するために, まだ解明されていない *Hes2* 遺伝子を同定し, 続いて全 *Hes* 遺伝子についてプロモーター解析を行うことによって Notch との関係を調べた。

1. マウス *Hes2* 遺伝子のクローニング

当教室において同定されたラット cDNA をプローブとしてマウス遺伝子ライブラリーをスクリーニングし, *Hes2* 遺伝子を同定し, その全塩基配列を決定した。その結果, マウス *Hes2* 遺伝子は 4 つのエクソンから成り, すべてのイントロンは蛋白をコードする領域に含まれていて, かつその位置は他の *Hes* ファミリーのメンバーおよびショウジョウバエの *hairy* との間でよく保存されていることが明らかになった。

2. マウス *Hes2* 遺伝子座の決定

ジャクソン研究所により作製された, C57/BL6 と *M. spretus* の 2 種の種間戻し交配パネルを用いた解析により, マウス *Hes2* 遺伝子は第 16 染色体に配座する *Hes1* とは異なり, 第 4 染色体の *Hes3, Hes5* の近傍に配座することが明らかになった。

3. マウス *Hes2* 遺伝子の転写開始部位の決定

RNase プロテクション法により, 転写開始点を決定した。その上流には GC-rich 領域は存在するが, TATA box は存在しないことが明らかになった。

4. マウス *Hes* 遺伝子のプロモーター解析

Hes1, Hes2, Hes3, Hes5 のプロモーターにルシフェレース遺伝子をつなぎ, 活性型 Notch による作用を調べた。その結果, *Hes1, Hes5* プロモーターのみが Notch によって著明に活性化された。すなわち, *Hes* 遺伝子群は Notch の下流で機能するもの (*Hes1, Hes5*) とそうでないもの (*Hes2, Hes3*) との 2 つのグループにわかれることが示された。*Hes1* と *Hes5* の

プロモーターには RBP-J の結合部位があり, *Hes1* プロモーターの RBP-J 結合部位を破壊すると, Notch による活性化がみられなくなった。これにより, Notch による *Hes* の誘導には RBP-J が関与していることが示唆された。

論文審査の結果の要旨

本研究は、発生で重要な役割を持つショウジョウバエのヘリックス・ループ・ヘリックス型転写因子 hairy の哺乳類ホモログ *Hes2* 遺伝子の構造と転写機構を解析したものであり、以下のことを明らかにした。

1. マウス *Hes2* 遺伝子は 4 つのエクソンから成り、すべてのイントロンは蛋白をコードする領域に含まれていて、かつそれらの位置は他の *Hes* ファミリーおよびショウジョウバエ hairy との間で保存されていた。

2. C57/BL6 と *M. spretus* の 2 種の種間戻し交配パネルを用いた解析により、第 16 染色体に配座する *Hes1* とは異なり、*Hes2* 遺伝子は第 4 染色体の *Hes3*, *Hes5* の近傍に配座した。

3. RNase プロテクション法解析により、転写開始点を決定し、その上流には GC-rich 領域は存在するが、TATA box が存在しないことを示した。

4. プロモーター解析の結果、*Hes* 遺伝子群は Notch の下流で機能するもの (*Hes1*, *Hes5*) とそうでないもの (*Hes2*, *Hes3*) との 2 つのグループにわかれることを示した。

以上の結果は哺乳類の発生に関わる転写因子の転写機構を明らかにしたものであり発生機構の理解に貢献する所が大きい。

したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成 12 年 1 月 24 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。