

氏 名	谷 正 一
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 2398 号
学位授与の日付	平 成 13 年 5 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 脳 統 御 医 科 学 系 専 攻
学 位 論 文 題 目	The amino- and carboxy-terminal regions of RBP-J interact with the ankyrin repeats of Notch1 RAMIC to activate transcription (Notch による転写活性化における RBP-J の N 末及び C 末の役割についての研究)
論文調査委員	(主 査) 教 授 影 山 龍 一 郎 教 授 柴 崎 浩 教 授 橋 本 信 夫

論 文 内 容 の 要 旨

Notch シグナルは神経分化, 遺伝性虚血疾患, 癌化を始め, 様々な細胞系譜の分化抑制に関与するシグナル伝達系と考えられている。その伝達様式は Delta などのリガンドとの bind によって, 細胞膜上の膜タンパク Notch の細胞内領域が切断される事で始まり, Notch の細胞内領域は細胞核へ移行し, 転写因子 RBP-J を介して target genes の発現を活性化する。Notch による RBP-J の転写活性のメカニズムの解析と制御の可能性を模索するため, RBP-J の mutational analysis を施行した。

RBP-J ノックアウトマウスより樹立した線維芽細胞株 OT11 に対し, 活性型 Notch, 変異 RBP-j, reporter plasmid を transient に transfect し, その転写活性を定量した。さらに, Notch 及び Notch と競合する転写抑制因子である SMRT, KyoT2 に対する変異 RBP-J の in vitro affinity を定量した。

36 種の変異 RBP-J を分析し, 1 種の高転写活性変異 RBP-J と 13 種の低転写活性変異 RBP-J を得た。高転写活性変異 RBP-J は SMRT との affinity が低下していることが転写活性の変化の原因であることが示唆された。低転写活性変異 RBP-J の中で, 6 種は DNA 結合能が低下していることが原因であることが示唆された。残りの 7 種の低転写活性変異 RBP-J は DNA 結合能は保たれていたが, in vivo で Notch の ankyrin 領域との結合能が低下しており, さらにその変異の部位が RBP-J の ankyrin-binding 領域に一致したため, Notch の ankyrin 領域との結合能の変化が原因であることが示唆された。

これらの結果より, Notch による RBP-J の転写活性には Notch の ankyrin 領域と RBP-J との結合が重要であることが示唆された。また Notch シグナルを制御する可能性のある 3 タイプの変異 RBP-J が同定された。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

Notch シグナルは神経分化, 遺伝性虚血疾患, 癌化など細胞分化に関与するシグナル伝達系である。膜タンパク Notch はリガンドとの結合によって細胞内領域が切断され, 核へ移行し, 転写因子 RBP-J を介して標的遺伝子の発現を活性化する。Notch による RBP-J の転写活性様式の解析と制御の可能性を模索するため, 変異 RBP-J が解析された。

RBP-J ノックアウトマウスより樹立した線維芽細胞株 OT11 への活性型 Notch, 変異 RBP-J の一過性導入による転写活性と, Notch 及び 2 つの転写抑制因子 (SMRT, KyoT2) に対する変異 RBP-J の in vitro での結合能が定量された。

36 種の変異 RBP-J が分析され, 1 種の高転写活性型 RBP-J と 13 種の低転写活性型 RBP-J が得られた。高転写活性型 RBP-J は SMRT との結合が低下していることが高転写活性の原因であることが示唆された。低転写活性型 RBP-J の中で, 6 種は DNA 結合能が低下していることが原因であることが示唆された。残りの 7 種の低転写活性型 RBP-J は DNA 結合能は保たれていたが, in vivo で Notch の ankyrin 領域との結合能が低下しており, Notch の ankyrin 領域との結合能の変化が原因であることが示唆された。

以上により、Notch による RBP-J の転写活性には Notch の ankyrin 領域と RBP-J との結合が重要であることが示唆された。また Notch シグナルを制御する可能性のある 3 タイプの変異 RBP-J が同定された。

以上の研究は Notch シグナル様式の理解に貢献し、細胞分化機構の解明に寄与するところが多い。

従って、本論文は博士（医学）の学位論文として価値のあるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成13年 3 月 9 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。