

## 神経軸索に存在する「転写因子」 mRNA の局在機構

### [1] 組織

代表者：荒木 功人

(岩手大学工学部)

対応者：仲村 春和

(東北大学加齢医学研究所)

分担者：小野寺 望

(岩手大学大学院工学研究科、  
岩手大学大学院連合農学研究科)

研究費：物件費10万円

### [2] 研究経過

従来、ニューロンにおいて翻訳は細胞体と樹状突起でのみ起こり、軸索では起こらないと考えられていた。しかし、幾つかのニューロンにおいて軸索で mRNA が発見され、それらの少なくとも一部は細胞体に由来し、軸索で局所的にタンパク質に翻訳されることが近年明らかになってきた。そのような mRNA の中には転写因子をコードするものも含まれ、ニューロトロフィンによる刺激や、軸索切断がトリガーとなり、局所的に翻訳されたのち、細胞体に移行し、核で機能することが、少なくとも幾つかの転写因子に関して示されている(Cox et al., 2007; Ji & Jeffery, 2012; Ben-Yaakov et al., 2012)。このようなプロセスが、神経回路形成や軸索再生の下で広範に機能している可能性がある。

前年度末までに私たちはニワトリ後期胚の脳における *in situ* ハイブリダイゼーションによるスクリーニングを行い、転写因子 *Scrt2*, *Tshz2*, *Gata3* をコードする mRNA が中脳視蓋軸索に局在することを見出した。これに引き続き、これらの mRNA に関わる以下の問題に取り組んだ。(1) 当該軸索はどこに投射し、その細胞体の位置はどこに位置するか。(2) 当該 mRNA の機能は何か。(3) 当該 mRNA が軸索に局在する機構はどのようなものか。(4) 他にも当該軸索に局在する転写因子をコードする mRNA は存在するか。

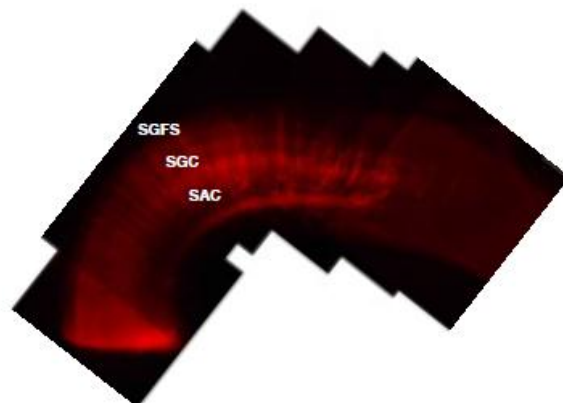
遺伝子導入胚を長期間培養する際には、加齢研にて培養を行った(本年度6月~1月にかけて7回)。

### [3] 成果

(3-1) 研究成果

前述の問題に関し、本年度は、以下に示す研究成果を得た。

(1) 脂溶性蛍光物質 DiI の結晶を固定した脳標本の当該軸索が密に存在する部位に埋め込むことにより、その細胞体の多くが視蓋の中心白層(SGC)に位置し、また軸索が恐らく延髄に投射することを明らかにした。このデータに関しては 7th International Chick Meeting (2012年11月、名古屋)にて報告した(原著論文準備中)。



(2) 機能解析の手始めとして、遺伝子導入を行いやすい初期胚の中脳神経系において、当該転写因子の機能攪乱実験を行った。予備的な結果ながら *Scrt2* が、神経細胞の移動に影響するデータが得られた。*Tshz2* と *Gata3* に関しては、これまでに形態や調べた分子マーカーに関し、表現型は検出されていない。これらに関しては、引き続き、他の分子マーカーにより表現型を検討する必要がある。

(3) 3' 非翻訳領域(UTR)が mRNA の細胞内局在に影響することが多いので、その解析のためのレポーター遺伝子を作製した。まず、EGFP の N 末端に GAP43 のアシル化修飾配列を付加し、次に C 末端にオルニチンカルボキシラーゼの PEST 配列を付加した。これによりこの改変 EGFP は不安定かつ膜結合型となり、細胞体で翻訳されても軸索へ拡散する度合いが低下することが期待される。これと平行して 3' RACE を行い、*Gata3* の 3' UTR を単離した。これは GenBank に登録されている *Gata3* の 3' UTR よりも長かった。他の 2 つの遺伝子の 3' UTR も単離後、これらを前述のレポーター遺伝子に繋げ、

3' UTR 内のどの配列が軸索局在に重要であるかを明らかにする予定である。

(4) 前述のスクリーニングを継続し、これまでに更に、MEF2, MEF2D, AP2 $\beta$ , Par3, aPKC $\zeta$ といった遺伝子の mRNA が中脳視蓋の軸索に局在することを見出した。後根神経節ニューロンの軸索では Par3 mRNA は局在するものの aPKC $\zeta$  mRNA は局在しないことが報告されており、このようなニューロン毎の局在の差は興味深い(Hengst et al., 2009)。

#### (3-2) 波及効果と発展性など

(1) における当該軸索の細胞体の位置の同定により、スライス培養や単ニューロン培養への道が開けた。このことにより、(2) - (4) の問題に対し、より精密、あるいは多様なアプローチが可能となった。本研究の進展は、神経回路形成の分子機構のより正確な理解に寄与するだけでなく、軸索の再生医療にも貢献することが期待される。

#### [4] 成果資料

なし