

[ 別紙 2 ]

審 査 の 結 果 の 要 旨

氏 名 竹 内 壯 介

本研究は D<sub>1A</sub> ドーパミン受容体遺伝子の転写を抑制している機構を明らかにするため、マウス神経芽細胞腫由来の培養細胞株 Neuro2a 細胞および NS20Y 細胞を用いて、抑制性転写調節領域および抑制性転写調節因子の解析を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. D<sub>1A</sub> ドーパミン受容体遺伝子非発現培養細胞株である Neuro2a 細胞による deletion CAT assay から、CAP site の上流-561 塩基と-532 塩基との間の 30 塩基対の領域が抑制性転写調節領域であることを同定し、D1AS1 と命名した。
2. 抑制性転写調節領域 D1AS1 の配列を検討し、Gel mobility shift assay、RT-PCR および Western blotting から、Neuro2a 細胞において同部位に結合している転写調節因子が AP-2 $\beta$ であることを明らかにした。
3. Neuro2a 細胞において AP-2 $\beta$ 発現ベクターを用いて CAT assay をおこない、AP-2 $\beta$ が D1AS1 依存性に D<sub>1A</sub> ドーパミン受容体遺伝子の発現を抑制することを示した。
4. D<sub>1A</sub> ドーパミン受容体遺伝子発現培養細胞株である NS20Y 細胞において、Gel mobility shift assay および Western blotting から、D1AS1 に結合する因子を示すバンドが観察されないことならびに AP-2 $\beta$  の蛋白発現量が少ないことを示した。また、CAT assay にて AP-2 $\beta$  を導入したが、NS20Y 細胞においては D<sub>1A</sub> ドーパミン受容体遺伝子の発現は抑制されない結果であった。

5. マウス脳組織核抽出物を用いた Gel mobility shift assay から、脳組織においても D1AS1 に結合する因子を示すバンドが観察されることを示した。

以上、本論文は D<sub>1A</sub> ドーパミン受容体遺伝子非発現培養細胞株である Neuro2a 細胞にて働く抑制性転写調節領域 D1AS1 を同定し、AP-2 $\beta$  がこの領域に結合する抑制性転写調節因子であることを明らかにした。本研究は神経細胞の受容体遺伝子発現調節の機構の一端を解明し、神経細胞に対する転写制御へ繋がる得る知見を明らかにしたのとして、学位の授与に値するものと考えられる。