

## 論 文 要 旨

**Brain-specific transcript variants of 5' and 3' ends of mouse *VPS13A* and *VPS13C***

マウス *VPS13A* と *VPS13C* 遺伝子の 5' および 3' 末端には脳特異的な転写バリエーションが存在する

水野 恵三子

**【序論および目的】**

有棘赤血球舞蹈病 (ChAc) は、ハンチントン病様の神経精神症状と有棘赤血球症を呈する稀な遺伝性神経変性疾患であり、我々は病因遺伝子として *VPS13A* を同定した。ヒト ChAc 症例は数少なく、臨床研究には限界があるためモデル動物を要すと考え、我々はヒトと同じ遺伝し変異を持つ ChAc モデルマウスを作成した。このマウスは ChAc 類似の症状を呈し、線条体特異的な神経変性を持つことが明らかになった。また、モデルマウス作成のためにマウス *VPS13A* を同定する過程において、マウス EST 検索にてマウス *VPS13A* 類似配列の遺伝子を検出し、これがヒト *VPS13C* のホモログであることを同定した。これらの過程で 5' および 3' 末端にさまざまな転写バリエーションが存在することが観察されていた。今回我々は、ChAc 病態すなわち脳特異的な変性にはこれらバリエーションの同定が必要と考え、マウス *VPS13A* と *VPS13C* の脳および末梢組織における転写バリエーションの同定を行った。

**【材料および方法】**

7 週齢の C57BL/6J 野生型雌マウスを用い、脳の各領域 (海馬、線条体、大脳皮質、脳幹、中脳、小脳) と末梢組織から total RNA を抽出し、ランダムプライマーを用いて逆転写反応 (RT) を行った。マウス *VPS13A* 遺伝子配列類似のマウス EST 配列に基づいてプライマーを設計し、マウス全脳由来の cDNA を用いて 5' および 3'-RACE 法により全塩基配列を決定し、その配列がマウス *VPS13C* であることを確認した。

各組織由来の total RNA を用い 3' および 5' RACE-PCR を行い、PCR 産物のクローニング、シーケンシングを行い、3' および 5' 末端の転写バリエーションを確認した。5' および 3' 末端以外の遺伝子領域については、RT-PCR 法により転写バリエーションの有無を確認した。

**【結 果】****マウス *VPS13A* の 5'-RACE PCR の結果**

PCR 産物のアガロースゲル電気泳動によって約 150~500 塩基にわたる 5 種類のバンドが観察され、約 500 bp のバンドは主に脳部位に認められ、また、シーケンシングの結果、これらの 5 種類の転写バリエーションは、それぞれ転写開始点が異なっていた。

**マウス *VPS13A* の 3'-RACE PCR の結果**

PCR 産物のアガロースゲル電気泳動によって 6 種類のバンドが観察され、脳に特異的及び末梢組織に特異的なバンドを認めた。シーケンシングの結果、転写バリエーションはそれぞれポリ A 付加部位が異なり、スプライシングバリエーションも存在した。

**マウス *VPS13C* の同定と 5' および 3'-RACE PCR の結果**

マウス *VPS13A* 類似配列を有するマウス EST 配列をもとに 5' および 3'-RACE 法を用いてマウス *VPS13C* の全配列を同定した。

5'-RACE PCR 産物の電気泳動の結果、9 種類の転写バリエーションを同定した。約 800 bp のバンドは脳

に特異的であり、シーケンシングの結果、それらのバリエーションは転写開始点が異なり、またスプライシングバリエーションも認められた。

3'-RACE PCR 産物の電気泳動の結果、4種類の転写バリエーションが検出されたが、これらには組織特異性はみられなかった。

**【結論及び考察】**

マウス *VPS13A* の 5'末端領域に6つの転写開始点が確認された。各転写開始点の上流に転写因子結合配列をデータベース検索によって確認した。また、各転写バリエーションを比較すると非翻訳領域の長さの違いだけでなく、翻訳開始点の使い分けもみられた。主に脳の各領域にみられた転写バリエーションはエクソン1から転写が開始され翻訳されていると考えられる。転写バリエーションによっては翻訳開始点がエクソン5やエクソン9に存在する可能性があり、この場合、それぞれ107、221アミノ酸残基分短いタンパク質が産生され、*VPS13A* がコードするタンパク質 chorein の coiled-coil 構造が欠失することが予想された。

マウス *VPS13A* の 3'末端ではヒトで報告されているトランスクリプト A、B、C に相同する配列が同定され、このうちトランスクリプト B に相同する転写バリエーションが脳に特異的であった。

マウス *VPS13C* の 5'末端ではエクソン1-9全てで構成される配列が脳における主要なバンドとして観察され、脳の部位間における発現量の違いはみられなかった。末梢組織では組織間で転写開始点の違いがあり、エクソン1以外から転写開始されるものは翻訳開始点がエクソン11に存在することになり、これにより産生されるタンパク質は294アミノ酸残基分短いことが予想された。

マウス *VPS13C* の産物はマウス *VPS13A* 産物 chorein と相同性が最も高く、脳特異的な転写バリエーションは何かの神経変性疾患に関与しているのかもしれない。

マウス *VPS13A* の脳特異的な転写バリエーションは、今後の ChAc モデルマウスの病態に関わる可能性が高く、脳病理研究に有益であると考えられる。

(BIOCHEMICAL AND BIOPHYSICAL RESEARCH COMMUNICATIONS Volume 353, Issue 4, Pages 902-907, 2007年 掲載予定)