

28SE-am07

アクチン結合性転写因子 MKL2 新規スプライスバリエーションの同定と機能解析
○庄司 しずく¹, 袴田 知之¹, 石川 充¹, 津田 正明¹, 田淵 明子¹ (¹富山大学院薬・分子神経生物学)

【目的】Megakaryoblastic leukemia(MKL)ファミリーは、アクチン結合能を有し、形態変化に関わるとともに、転写因子 serum response factor(SRF)のコアクチベーターとして遺伝子発現に関わるユニークな分子群である。我々は、MKL ファミリーが樹状突起形態変化に重要な役割を果たしていることを明らかにしている。MKL ファミリーのうち、特に前脳に高発現する MKL2 の mRNA 発現に着目した結果、すでに報告のある 3 つのスプライスバリエーションとは異なる新規スプライスバリエーションを発見した。本研究では、この新規スプライスバリエーションの組織や脳領域別の発現解析に加え、その機能解析を行ったので報告する。

【方法】マウスおよびラットの臓器、あるいは初代培養ラット大脳皮質ニューロン、培養ラットアストロサイトから RNA を調製し、発現解析として定量的 PT-PCR を行った。また 5'-RACE を行って全長 MKL2cDNA をクローニングした後、myc や HA タグ付き発現ベクターにサブクローニングし、機能解析(転写活性や形態変化解析)に用いた。

【結果・考察】MKL2 の新規バリエーション(バリエーション 4)は、報告されていたバリエーション(バリエーション 3)よりも約 60bp のエクソンが 1 つ多いものであり、ニューロンにはほぼ選択的に発現していることが明らかとなった。バリエーション 4 は、大脳皮質ニューロンの培養日数の経過と共に mRNA 量が増加し、同様に脳組織でも発達とともに mRNA 量は増加していく傾向にあった。また、NIH/3T3 細胞や大脳皮質ニューロンにおいて、SRF 転写活性を上昇させた。さらに、バリエーション 4 の細胞内局在は、バリエーション 3 と同様であった。現在、他の MKL2 バリエーションについてもクローニングを行っており、バリエーション 4 との機能性の違いについて解析中である。