

平成 22 年 6 月 16 日現在

研究種目：若手 B

研究期間：2008～2009

課題番号：20790244

研究課題名（和文） RBP-J 欠損神経細胞が示す分化障害の分子機構の解析

研究課題名（英文） The molecular mechanism of maturation defects of RBP-J-deficient neurons.

研究代表者

谷垣 健二 (Tanigaki Kenji)

滋賀県立成人病センター研究所・遺伝子研究部門・専門研究員

研究者番号：70362473

研究成果の概要（和文）：Notch/RBP-J シグナルは神経幹細胞の維持をはじめ、神経発生を多段階で制御することが知られていた。我々は、Notch シグナルの主要な伝達因子 RBP-J が神経細胞の成熟にも関与していることを見出した。蛍光蛋白質である GFP の変異体である Venus を用いて Notch シグナルを可視化することによって、その機能が RBP-J の転写抑制によることを明らかにした。

研究成果の概要（英文）：Notch/RBP-J signaling regulates neural development at multiple stages. We elucidated that RBP-J, a main mediator of Notch signaling promotes neuronal differentiation. We demonstrated the function of RBP-J to promote neuronal maturation is dependent on its repressor activity using Notch signaling reporter.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	2,300,000 円	690,000 円	2,990,000 円
2009 年度	1,100,000 円	330,000 円	1,430,000 円
年度			
年度			
年度			
総計	3,400,000 円	1,020,000 円	4,420,000 円

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・医化学一般

キーワード：発生医学

## 1. 研究開始当初の背景

Notch/RBP-J シグナルは発生過程の多段階において神経分化を制御することが知られているが、神経細胞への運命決定後の Notch/RBP-J シグナルの機能はまだ解明されていない。マウスでは、4つの Notch 受容

体と 5つのリガンドが存在することが知られており、機能的に相互に補償するため、コンベンショナルなノックアウトの技術では神経細胞への運命決定後の Notch/RBP-J シグナルの機能を明らかにすることは非常に困難である。我々は、Notch シグナルの重

要な伝達因子である転写因子 RBP-J の conditional knockout mice を樹立し、組織特異的に Cre を発現した transgenic mice と掛け合わせることによって、組織特異的、発生段階特異的に RBP-J を欠損させ、その機能を解析することが可能であることをリンパ球の系を用いて明らかにしてきた。Notch/RBP-J シグナルは発生過程の多段階において神経分化を制御することが知られているが、神経細胞への運命決定後の Notch/RBP-J シグナルの機能はまだ解明されていなかった。

## 2. 研究の目的

本研究においては、神経特異的 RBP-J 欠損マウスを用いることで、Notch/RBP-J と転写因子ネットワークによる神経細胞の分化、成熟の制御を解明することを目的とする。

## 3. 研究の方法

RBP-J conditional knockout mice と CamKII-cre transgenic mice を掛け合わせることで神経細胞特異的に RBP-J を欠損したマウスを作製し、神経細胞への運命決定後の Notch/RBP-J シグナルの機能の解析を行う。

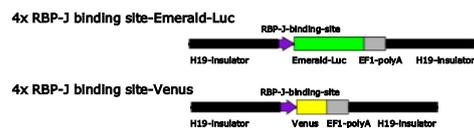
## 4. 研究成果

我々は、神経細胞特異的 RBP-J 欠損によって神経細胞の成熟が障害され、RBP-J を欠損した神経細胞は皮質板 (cortical plate) への放射状移動 (radial migration) が遅延することを明らかにした。

この表現型が、RBP-J を介した Notch シグナルの活性化の欠如に起因するものか、RBP-J を介した転写抑制の解除に起因するものかを明らかにするため、RBP-J による転写

抑制効果を可視化できるレポーターの作製を試みた。

我々が作製した RBP-J-binding site-SV40 promoter luciferase/Venus のコンストラクトは、SV40 promoter という それだけで Venus の発現を誘導できるプロモーターに RBP-J 結合サイトをタンデムにつなぐことによって、RBP-J の転写抑制能を可視化できる可能性がある Notch レポーター コンストラクトである。Notch/RBP-J シグナルの活性化をモニタリングできているかを検証するため、RBP-J floxed mice から樹立された神経幹細胞の培養系を用いて解析を行なった。gamma-secretase 阻害剤である DAPT の投与によって Notch シグナルを阻害すると、神経幹細胞は神経へと分化がすすむ。すると、レポーターからの Venus の高発現が抑制されるだけでなく、完全な発現抑制が起こることを見出した。この完全な転写抑制効果は、Cre による RBP-J の欠損誘導によって解除されることから、このレポーターを用いることで RBP-J による転写抑制化を可視化できる可能性が示唆された。我々は、このレポーターに insulator を加えたコンストラクトを用い、Notch シグナルの活性化と RBP-J による転写活性化能を可視化できる transgenic マウスを作製し、胎生 14 日の大脳皮質において Notch シグナルの活性化を可視化できることを確認した。



Notch/RBP-J レポーターコンストラクト

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 3 件)

Suzuki G, Harper KM, Hiramoto T, Sawamura T, Lee M, Kang G, Tanigaki K, Buell M, Geyer MA, Trimble WS, Agatsuma S, Hiroi N. Sept5 deficiency exerts pleiotropic influence on affective behaviors and cognitive functions in mice. Hum Mol Genet, 18, 2009, 1652-60

Fujimoto M, Takagi Y, Muraki K, Nozaki K, Yamamoto N, Tsuji M, Hashimoto N, Honjo T, Tanigaki K. RBP-J promotes neuronal differentiation and inhibits oligodendroglial development in adult neurogenesis. Dev Biol, 332, 2009, 339-50

Carlén M, Meletis K, Göritz C, Darsalia V, Evergren E, Tanigaki K, Amendola M, Barnabé-Heider F, Yeung MS, Naldini L, Honjo T, Kokaia Z, Shupliakov O, Cassidy RM, Lindvall O, Frisén J. Forebrain ependymal cells are Notch-dependent and generate neuroblasts and astrocytes after stroke. Nat Neurosci, 12, 2009, 259-67

[学会発表] (計 4 件)

谷垣健二 RBP-J の神経機能における役割の解析  
第 3 回 Notch 研究会 2008 年 7 月 17 日  
国立遺伝学研究所

Tanigaki K. RBP-J promotes neuronal differentiation.  
第 32 回日本神経科学会 平成 21 年 9 月 16 日  
名古屋

Tanigaki K. RBP-J promotes neuronal differentiation.  
The Notch Meeting 平成 21 年 9 月 25 日  
ギリシア

Tanigaki K. RBP-J promotes neuronal differentiation.  
第 32 回日本分子生物学会 平成 21 年 12 月 9 日  
横浜

[その他]

ホームページ等

<http://www.shigamed.jp/staff/tanigaki.html>

プレスリリース

京都新聞 2009 年 6 月 20 日

科学新聞 2009 年 7 月 10 日

6. 研究組織

(1) 研究代表者

谷垣 健二 (TANIGAKI KENJI)

研究者番号 : 70362473

(2) 研究分担者

( )

研究者番号 :

(3) 連携研究者

( )

研究者番号 :