

## 脳特異的蛋白質遺伝子における ID 配列

新潟大学脳研究所神経薬理学部門 (主任: 高橋康夫教授)

薄井 宏

“Brain Identifier (ID)” sequences in the genes for brain-specific proteins

Hiroshi USUI

*Department of Neuropharmacology, Brain Research Insititute*

*(Director: Prof. Yasuo TAKAHASHI)*

The presence of the “brain identifier (ID)” sequence was examined in three rat genes coding for brain-specific proteins. The rat gene for S-100 protein  $\beta$  subunit had three ID elements; two in the intron 1 and one in 3' flanking region. The nucleotide sequences of these ID elements well corresponded to that of consensus ID sequence and were structurally different from “ID-like” elements in rat  $\beta$ B1 crystallin gene, etc. ID elements were also observed in the flanking regions of rat neuron-specific enolase (NSE) gene and cholecystokinin (CCK) gene. The direct repeats, which were 10–17 base pair in length, flanked the ID elements in S-100 protein  $\beta$  subunit gene and the other genes which has already been reported. The nucleotide composition of these direct repeats was similar to that flanking human Alu family. Any specific nucleotide sequence and significant nucleotide preference were not observed in the flanking regions (50 bases) on each side of the direct repeats flanking ID elements.

Key words: ID sequence, brain-specific protein, gene expression, direct repeat.

ID 配列, 脳特異的蛋白質, 遺伝子発現, 同方向反復.

### 略語表

mRNA: messenger RNA

cDNA: complementary DNA

EMBL: European Molecular Biological  
Laboratory

pol III: RNA polymerase III

pol II: RNA polymerase II

dA: deoxyadenosine

dT: deoxythymidine

dG: deoxyguanosine

dC: deoxycytidine

hnRNA: heterogenous nuclear RNA

poly (A) RNA: poly (adenylic acid)-RNA

哺乳動物の脳は、組織特異的に発現する mRNA の種類が多いこと<sup>1)2)</sup>や、クロマチン構造が他の臓器と異なること<sup>3)</sup>等が報告されており、脳における遺伝子発現調節機構は他の臓器にない特徴をもつ可能性があると考

Reprint requests to: Hiroshi Usui,  
Department of Neuropharmacology,  
Brain Research Insititute, Niigata  
University, Niigata City, 951, Japan.

別刷請求先: 〒951 新潟市旭町通1番町  
新潟大学脳研究所神経薬理学部門

薄井 宏

られる。現在までのところ、脳特異的遺伝子の発現機構に関する知見は非常に少ないが、最近 Sutcliffe らが提唱した仮説は注目に値する。彼らは、ラットゲノム中の 82bp の繰り返し配列が脳特異的遺伝子のイントロン中に主に存在し、脳特異的遺伝子の転写調節因子として働くと考えて、この配列を“brain identifier (ID)”配列と名付けた<sup>4) 5) 6) 7)</sup>。しかし、彼らの仮説は、脳で発現している cDNA の解析と *in vitro* 転写実験の結果から推察されたものであり、実際の脳特異的遺伝子の構造解析の結果に裏付けられたものではない。そこで、最近当教室でクローニングに成功したいくつかの脳特異的蛋白質遺伝子について、ID 配列の存在を検討しようと考えた。現在までにクローニングに成功したラット遺伝子は、アストログリアで特異的に発現する S-100 蛋白質  $\beta$  サブユニット (S-100( $\beta$ )) 遺伝子、ニューロンで特異的に発現するニューロン特異エノラーゼ (NSE) 遺伝子、それに大脳皮質に高濃度に存在する神経ペプチドであるコレシストキニン (CCK) の遺伝子である。この論文では、S-100( $\beta$ ) 遺伝子中に認められた ID 配列について詳細に述べ、また他の 2 つの“脳特異的”遺伝子における ID 配列についても報告し、考察を加える。

## 材料及び実験方法

### 材 料

制限酵素は、宝酒造及び New England Biolabs 社から購入した。T4 polynucleotide kinase は宝酒造から、 $[\gamma\text{-}^{32}\text{p}]$  ATP と  $[\alpha\text{-}^{32}\text{p}]$  dCTP は Amersham 社から購入した。また、ニトロセルロースフィルターは Scheicher & Schuell 社から購入した。

## 実 験 方 法

### 1. ラット高分子遺伝子 DNA の抽出

ラット脳から核を遠心分離し、Blin & Stafford の方法<sup>8)</sup>に従って高分子遺伝子 DNA を抽出した。

### 2. DNA プローブの作成

pBR322 にサブクローニングした DNA フラグメントを制限酵素で切断後、アクリルアミドゲル電気泳動により分離した。その後 DNA をゲルから電気泳動的に抽出し、 $[\alpha\text{-}^{32}\text{p}]$  dCTP を用いて Nick-translation 法によりラベルを入れた。

### 3. Southern blot 分析

アガロースゲルから Southern の方法<sup>9)</sup>に従って、DNA をニトロセルロースフィルターに blotting した。その後  $[\text{}^{32}\text{p}]$  でラベルした DNA プローブと hybrid-

ization を行い、洗浄後 autoradiography でバンドを観察した。hybridization の条件は、基本的に Thomas の方法<sup>10)</sup>に従った。

### 4. plaque hybridization

plaque hybridization の方法は、Benton & Davis の方法<sup>11)</sup>に従った。

### 5. フェージ DNA の抽出

組み換え体フェージ charon 4A からの DNA の抽出は、基本的に Davis らの方法<sup>12)</sup>に従った。

### 6. 塩基配列の決定

DNA フラグメントに、 $[\gamma\text{-}^{32}\text{p}]$  ATP と T4 polynucleotide kinase を用いてラベルを入れ、Maxam & Gilbert の化学的修飾法<sup>13)</sup>に従って塩基配列を決定した。

### 7. EMBL データベースの検索

EMBL に登録されているラット遺伝子 DNA 塩基配列のデータを、ソフトウェア開発社のプログラム Genetyx を用いて、パーソナルコンピューター NEC 9801 による検索を行った。

## 結 果

### 1. S-100( $\beta$ ) 遺伝子の構造

ラット高分子遺伝子 DNA を数種類の制限酵素で切断後、 $[\text{}^{32}\text{p}]$  でラベルした S-100( $\beta$ ) cDNA をプローブとして Southern blot 分析を行った。結果は示さないが大部分の制限酵素で 1 本のバンドが認められ、S-100( $\beta$ ) 遺伝子がラットハプロイドゲノムあたり 1 コピー存在することが示された。次に、Bonner 博士から供与されたラット遺伝子ライブラリーを、ラベルした S-100( $\beta$ ) cDNA をプローブとして plaque hybridization を行い、スクリーニングした。得られたいくつかの陽性フェージから DNA を抽出し、それらの制限酵素地図を組み合わせて、S-100( $\beta$ ) 遺伝子全長の制限酵素地図を作成した (図 1-A)。また、エクソン-イントロン境界の塩基配列を決定し、GT-AG ルールに従うことを確認した。

### 2. S-100( $\beta$ ) 遺伝子中の ID 配列

S-100( $\beta$ ) 遺伝子のイントロン I とエクソン II の境界周辺の塩基配列を決定中に、Sutcliffe らの提唱した ID 配列がイントロン I に存在することを見出した。この ID 配列を含む BamHI-Hap II フラグメント (図 1-A) を切り出し、 $[\text{}^{32}\text{p}]$  でラベルを入れて“ID プローブ”とした。クローニングされた S-100( $\beta$ ) 遺伝子 DNA を数種類の制限酵素で切断後、ID プローブを用

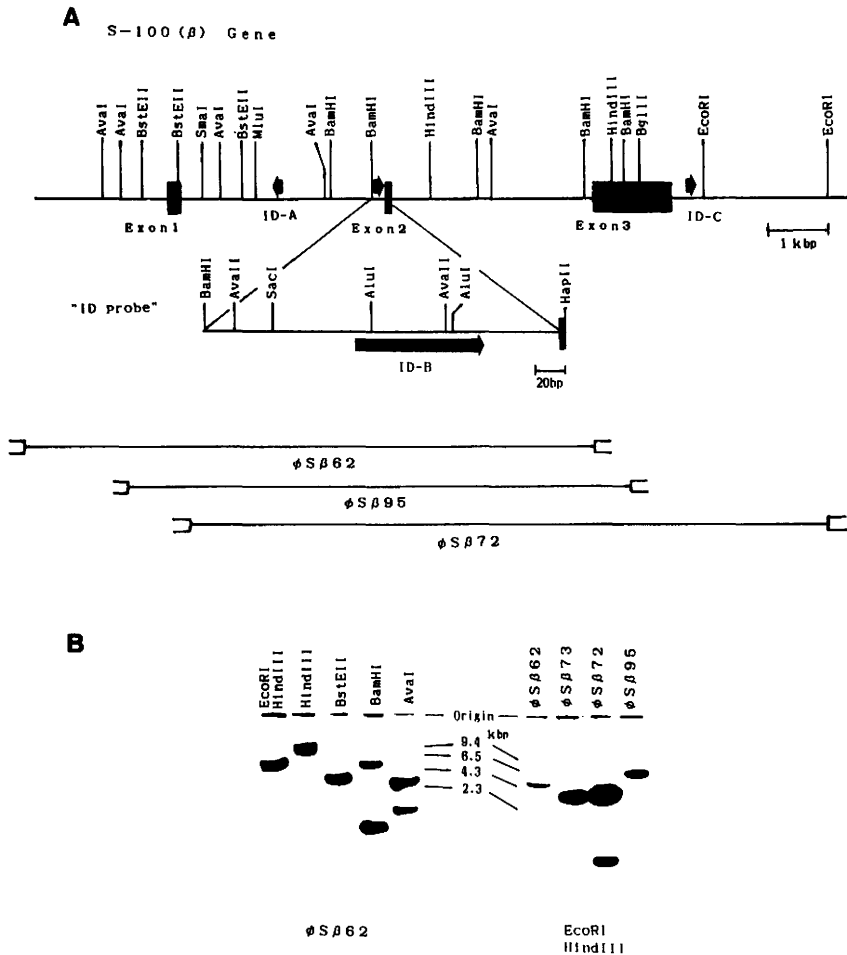


図1 S-100 ( $\beta$ ) 遺伝子の構造と ID 配列の局在

- A. S-100 ( $\beta$ ) 遺伝子の制限酵素地図。  
ID 配列の存在する位置 (→) と ID プローブを同時に示した。  $\phi S\beta 62, 72, 95$  はスクリーニングで得られた組み換え体ファージを表わす。
- B. ID プローブを用いた S-100 ( $\beta$ ) 遺伝子の Southern blot 分析。

いて Southern blot 分析を行い、S-100 ( $\beta$ ) 遺伝子の他の部位に ID 配列が存在するか否か検討した (図 1-B)。その結果、イントロン I にもう 1 ヶ、3' 隣接領域に 1 ヶの ID 配列が存在することを見出した。これら 3 つの ID 配列の実際の塩基配列を Maxam-Gilbert 法で決定した (図 2)。いずれの配列も ID コンセンサス配列と非常によく一致しており、内部の pol III プロモーター部位も保存されていた。3 つの ID 配列 (ID-A, B, C) の ID コンセンサス配列に対するホモロジーは各々、97.5%、95%、94%であった。このうち ID-B と ID-C

は pol II により mRNA に転写される鎖上に存在しており、ID-A はその相補鎖上に逆向きに存在していた。

### 3. NSE 遺伝子と CCK 遺伝子における ID 配列

当教室ですでにクローニングに成功していた、ラット NSE 遺伝子と CCK 遺伝子についても、数種類の制限酵素で切断後 ID プローブを用いて Southern blot 分析を行い、ID 配列の存在を検討した。その結果、CCK 遺伝子の約 5Kbp 5' 上流に 2 ヶ、NSE 遺伝子の約 2Kbp 3' 下流に 1 ヶの ID 配列が存在することを見いだした

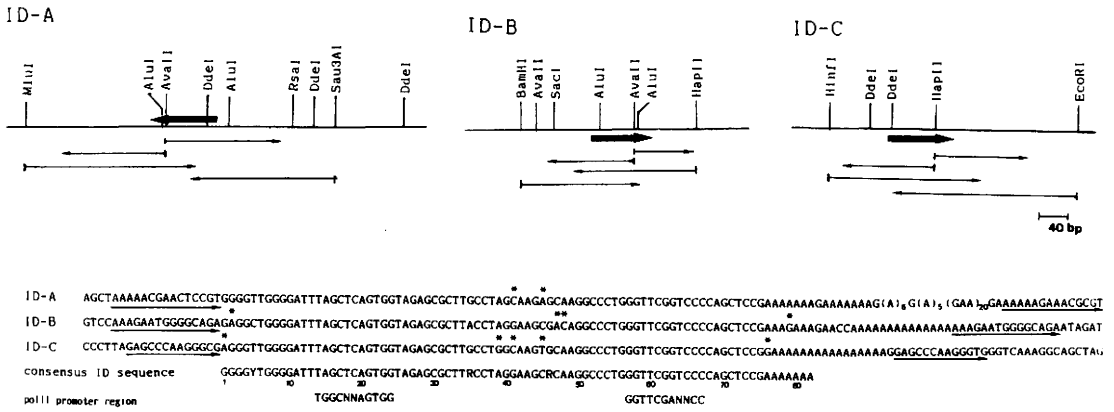


図 2 S-100 ( $\beta$ ) 遺伝子中の 3 つの ID 配列の塩基配列  
 各々の塩基配列決定の方法と, 明らかになった塩基配列を示した。  
 \* は ID コンセンサス配列と一致しない箇所を示している。

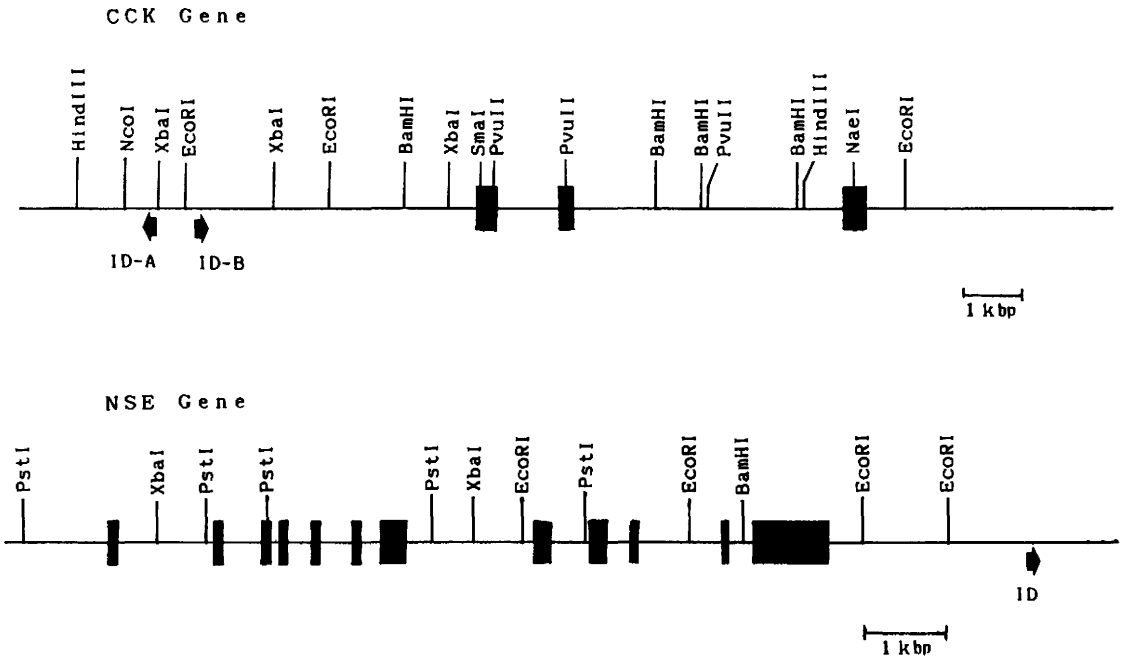


図 3 CCK 遺伝子と NSE 遺伝子の制限酵素地図  
 ID 配列の位置を  $\rightarrow$  で示した。

(図3).このうち CCK 遺伝子上流の2ヶの ID 配列については塩基配列を決定し、S-100( $\beta$ ) 遺伝子の場合と同様に ID コンセンサス配列とよく一致することを確認した。

4. ID 配列周辺の塩基配列

S-100( $\beta$ ) 遺伝子中に認められた ID 配列の塩基配列を決定中に、ID 配列に隣接して direct repeat が存在することを見出した。このような direct repeat が、すでに報告されている他の ID 配列にも同様に存在する

か否かを調べるために、EMBL データベースのコンピューターによる検索を行った。その結果、定型的な ID 配列にはいずれも隣接して direct repeat が存在することが明らかになった(図4-A)。これらの direct repeat は長さが 10~17bp と一定しておらず、塩基配列も各々の ID 配列ごとに異なっている。しかし一般的に、direct repeat の 5' 側には dA 残基が多く、3' 側になるにつれて dA 残基の出現頻度が下がる傾向が認められた(図4-B)。また、direct repeat の周囲に特徴ある塩基配列

A

	5' direct repeat	3' direct repeat
S-100( $\beta$ ) A	AAAACGAACTCCGT	AAAAAGAAACGCGT
S-100( $\beta$ ) B	AAAGATGGGGCAGA	AAAGATGGGGCAGA
S-100( $\beta$ ) C	GAGCCCAAGGGCG	GAGCCCAAGGGTG
CCK A	AAGAATAGACCACCTTG	AAGAATAGACCACCTTG
CCK B	AAGGTGTGGCCTT	AAGGTGTGGCCTT
growth hormone	AACAGTATGACAGAGA	AACAGTATGACAGAG
$\alpha$ -tubulin pseudogene	AAGACCAAGCGTACC	AAGACCAAGCGTACC
U1 RNA	AATTGGCCTAG	AATTGGCCT..
U2 RNA	AAAAATAGACAATA	AAAAATAGACAATA
L-type pyruvate kinase	AGAGAAAAGCT	AGAGAAAAGCC
P-450d B	AAAAAAACAA	AAAAAAACAA
P-450d C	AAGATGGCAGAGG	AAGATGAGCAGAGG
prolactin gene allele	AAAAATGCGCTAATCT	AAAAATGCGCTAATCT
C3(1) } prostatic steroid	AGAGAGAAAAGA	AGAGAGAAAAA
C3(2) } binding protein	AGAGAGAAAAGA	AGAGAGAAAAA
seminal vesicle selection $\Psi$	AAGGTCACCGCC	AAGGTCACCGCC
Harvey sarcoma virus	AAAACATAGTGTITG	AACATATAGTGTITTA

B

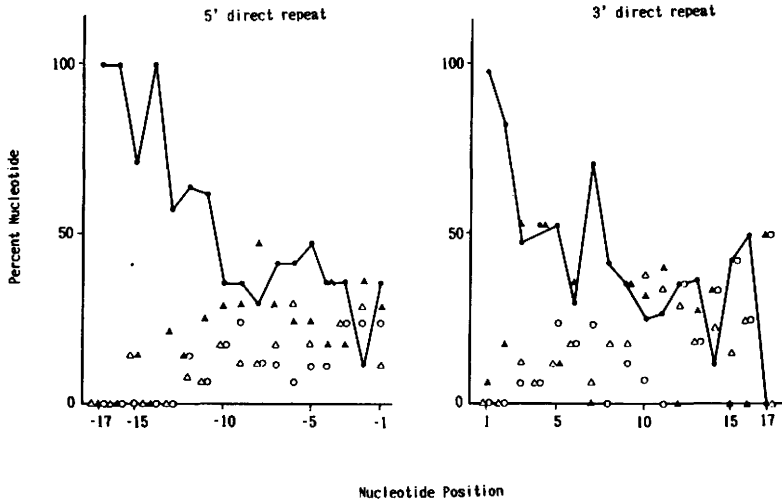


図4 ID 配列に隣接して認められた direct repeat

- A. direct repeat の塩基配列  
direct repeat の間の点線は、ID 配列を表わす。
- B. direct repeat 中の各々の位置における各塩基の出現頻度  
●は dA 残基, ○は dT 残基, ▲は dG 残基, △は dC 残基の出現頻度(%)を示す。  
dA 残基の各々の位置における出現頻度を直線で結んだ。

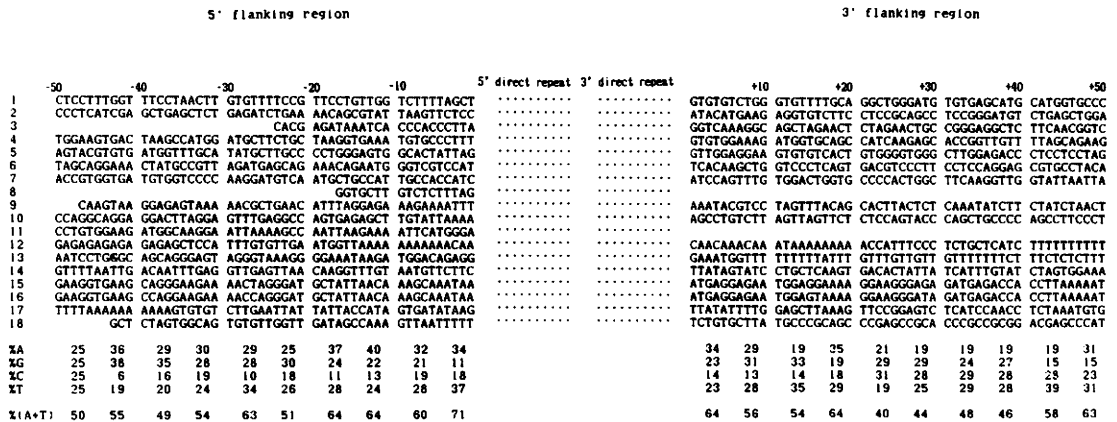


図 5 ID 配列の direct repeat に隣接する領域の塩基組成

direct repeat に隣接する 50bp の塩基配列を示した。1~3: S-100 ( $\beta$ ) A, B, C, 4, 5: CCK A, B, 6: growth hormone, 7:  $\alpha$ -tubulin pseudogene, 8: U1 RNA, 9: U2 RNA, 10: L-type pyruvate kinase, 11~13: P-450d A, B, C, 14: prolactin, 15, 16: prostatic steroid binding protein C3 (1), (2), 17: seminal vesicle selection IV, 18: rat Harvey sarcoma virus.

各々の塩基の出現頻度(%)を、5塩基ごとのブロックに分けて示した。各ブロックの d(A+T) 残基の出現頻度も示してある。

が存在するか否かを調べるために、direct repeat に隣接する 5' 側と 3' 側の各 50bp の塩基配列を比較した(図 5)。しかし、direct repeat の 5' 側に隣接する約 20bp の領域で d(A+T) 残基の出現頻度がわずかに高い以外には、塩基配列に特徴は認められなかった。

### 考 察

ID 配列は、脳特異的遺伝子のイントロン中に存在し、脳で特異的に pol III により転写されて、近隣の構造遺伝子の pol II による転写を調節する因子として提唱された。ID 配列はラットゲノム中に約  $1.5 \times 10^5$  コピー散在しており、このような散在性の繰り返し配列が構造遺伝子の転写活性を調節するという考えは、Britten-Davidson のモデル<sup>14)</sup>を継承したものと見える。ID 配列以外にもいくつかの反復配列が生体機能の発現にかかわっていることが示唆<sup>15) 16)</sup>されており、ID 配列の機能には関心がもたれた。しかしこれまでに ID 配列の存在が報告された遺伝子は、脳特異的遺伝子であるとはいえず<sup>17) 18)</sup>、ID 配列が真に脳特異的遺伝子中に存在するか否か明らかでなかった。

S-100 蛋白質  $\beta$  サブユニットは、ラットにおいて脳特異的に存在することが蛋白化学的、免疫組織化学的に示されており<sup>19) 20)</sup>、ごく最近、桑野らは S-100 ( $\beta$ ) mRNA がラットにおいて脳特異的に存在することを

確認した<sup>21)</sup>。このような明らかな脳特異的蛋白質の遺伝子中に、ID 配列が 3ヶ存在することが今回確認されたことは意義深いと考えられる。また、S-100 ( $\beta$ ) 遺伝子中の ID 配列はいずれも ID コンセンサス配列と非常に高いホモロジーを持ち、内部の pol III プロモーター部位も保存されていた。これに対して、最近アルドラーゼ B 遺伝子<sup>22)</sup>や  $\beta$ B1 クリスタリン遺伝子<sup>23)</sup>中に存在が報告された ID 様配列は、ID コンセンサス配列と 60%程度のホモロジーを持つものの、pol III プロモーター部位は保存されていない。ID 配列は pol III により転写されて細胞質中の短い RNA の鋳型となることが機能と結びついていると考えられており、pol III プロモーターが保存されていないこのような ID 様配列には、機能が期待できないと考えられる。また、今回 EMBL データベースの検索中に、他のいくつかのラット遺伝子中に同様な ID 様配列の存在を確認したが、このような配列の存在は、hybridization 法を用いて ID 配列のコピー数を調べようとする場合、その結果を複雑にする可能性がある。最近、Owens らは ID 配列が肝臓や腎臓の hnRNA 中に脳の hnRNA と同程度豊富に存在すると報告し<sup>24)</sup>、また Sapienza らは、ID 配列が豊富に存在するのは齧歯類の中でもラットに限られ、ID 配列に相補的な細胞質 RNA は脳ばかりでなく肝臓や腎臓にも存在すると述べている<sup>25)</sup>。しかし、これらはいずれも

hybridization で得られたシグナルを比較した結果であって、塩基配列を決定して確認したものではないことに留意する必要があると考えられる。

一方、ID 配列に隣接して認められたような direct repeat は、他の散在性の繰り返し配列にも隣接してしばしば認められる<sup>26)</sup>。また、結果の項で述べた direct repeat の塩基組成の特徴は、ヒト Alu ファミリーに隣接する direct repeat で報告されたもの<sup>27)</sup>と同一である。ID 配列も他のいくつかの散在性繰り返し配列と似たような機構で増幅され、ラットゲノム中に統合されたのかもしれない。ラットゲノム中に統合される場所に選択性があるかどうかを調べる目的で direct repeat の周囲の 50bp の塩基配列を調べたが、結果の項で述べたように明らかな特徴は認められなかった。増幅された ID 配列がゲノムに統合される際に、脳特異的遺伝子中に好んで挿入される否かは今のところ不明である。

しかしともかく、脳特異的遺伝子中に ID 配列が存在することは、今回 S-100( $\beta$ ) 遺伝子等の例で確認された。ラット脳には ID 配列に相補的な短い細胞質 RNA が存在しており、また最近、ID 配列が相補的な細胞質 RNA が存在する細胞中でエンハンサーとして働く可能性が示された<sup>28)</sup>。さらに、グリア細胞でのみ増殖する JC ウィルスが、ID 配列と部分的に一致 (23/25) するエンハンサー配列を持つことが報告されており<sup>29)</sup>、S-100( $\beta$ ) 遺伝子中 ID 配列もエンハンサーとして働いて S-100( $\beta$ ) 遺伝子の転写活性をあげる可能性はあると考えられる。

また、ラット NSE 遺伝子と CCK 遺伝子の周辺にも ID 配列が存在していた。これらの遺伝子の場合、ID 配列は転写ユニットからかなり離れて存在するが、エンハンサーのような機構で働いて転写活性に影響を及ぼす可能性は考えられる。

Sutcliffe らによるとラット脳では脳特異的 poly(A)<sup>+</sup> RNA が約 30,000 種存在し<sup>30)</sup>、また Hahn らによると約 50,000 種の脳特異的 poly(A)<sup>-</sup> RNA が存在するといふ<sup>31)</sup>。更に最近、Brown らはニューロン核の hnRNA 中には他の臓器の hnRNA より約 5 倍多い ID 配列が含有されていると報告した<sup>32)</sup>。これらの成績は、ラットゲノム中に存在する約  $1.5 \times 10^5$  コピーの ID 配列が脳特異的遺伝子中にある程度 enrich されて存在する可能性を示唆するものと考えられる。ID 配列は脳特異的遺伝子の転写機構に関与していると考えられるが、ID 配列の機能の解明のためには今後なお研究が必要であると思われる。

## 要 約

周知の脳特異的蛋白質である S-100 蛋白質  $\beta$  サブユニットの遺伝子中に、3 ケの “brain identifier (ID)” 配列が存在することが明らかになった。このうち 2 ケはイントロン I に、1 ケは 3' 隣接領域に存在していた。これら 3 ケの ID 配列の塩基配列はいずれも ID コンサス配列と非常によく一致しており、内部の pol III プロモーター部位も保存されていた。したがって、 $\beta$  B1 クリスタリン遺伝子等で報告された ID 様配列とは構造的に異なるものであった。

また ID 配列は、ニューロンで主に発現する NSE 遺伝子と CCK 遺伝子の近接領域にも存在が認められた。すなわち、CCK 遺伝子の 5' 上流に 2 ケ、NSE 遺伝子の 3' 下流に 1 ケの ID 配列が存在していた。

さらに、ID 配列に隣接して、10~17bp の長さの direct repeat が存在することが示された。この direct repeat の塩基組成の特徴は、ヒト Alu ファミリーに隣接する direct repeat で報告されたものと同じであった。ID 配列の direct repeat に隣接する 5' 側と 3' 側の各 50bp の領域に、特徴ある塩基配列は認められなかった。

稿を終えるにあたり、終始御指導、御校閲を賜った高橋康夫教授に深謝します。また、終始研究に御協力いただいた教室の方々に感謝いたします。

## 参 考 文 献

- 1) Chaudhari, D.M.: Complexity of cytoplasmic polyadenylated and nonpolyadenylated rat brain ribonucleic acids, *Biochemistry*, 18: 3249~3256, 1979.
- 2) Ozawa, H., Kushiya, E. and Takahashi, Y.: Complexity of RNA from the neuronal and glial nuclei, *Neurosci. Letters*, 18: 191~196, 1980.
- 3) Iaeger, A.W. and Kuenzle, C.C.: The chromatin repeat length of brain cortex and cerebellar neurons changes concomitant with terminal differentiation, *EMBO.J.*, 1: 811~816, 1982.
- 4) Sutcliffe, I.G., Milner, R.I., Bloom, F.E. and Lerner, R.A.: Common 82-nucleotide sequence unique to brain RNA, *Proc.*

- Natl. Acad. Sci. USA, 79: 4942~4946, 1982.
- 5) Milner, R.J., Bloom, F.B., Lerner, R.A. and Sutcliffe, J.G.: Brain-specific genes have identifier sequences in their introns, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81: 713~717, 1984.
  - 6) Sutcliffe, J.G., Milner, R.J., Gottesfeld, J.M. and Lerner, R.A.: Identifier sequences are transcribed specifically in brain, Nature (Lond.), 308: 237~241, 1984.
  - 7) Sutcliffe, J.G., Milner, R.J., Gottesfeld, J.M. and Reynolds, W.: Control of neuronal gene expression, Science, 225: 1308~1315, 1984.
  - 8) Blin, N. and Stafford, D.W.: Isolation of high molecular-weight DNA, Nucleic Acids Res., 3: 2303~2306, 1976.
  - 9) Southern, E.: Gel electrophoresis of restriction fragments, Methods in Enzymol., 68 (Ray, W., eds): 152~177, 1979.
  - 10) Thomas, P.S.: Hybridization of denatured RNA and small fragment transferred to nitrocellulose, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 77: 5201~5205, 1980.
  - 11) Benton, W.D. and Davis, R.W.: Screening  $\lambda$ gt recombinant clones by hybridization to single plaques in situ, Science, 196: 180~182, 1977.
  - 12) Davis, R.W., Botstein, D. and Roth, J.R.: Purification of phage, Advanced Bacterial Genetics, p.80~82, Cold Spring Harbor Laboratory (USA), 1980.
  - 13) Maxam, A.M. and Gilbert, W.: Sequencing end-labeled DNA with base-specific chemical cleavages, Methods in Enzymol., 65 (Grossman, L., eds): 499~860, 1980.
  - 14) Britten, R.J. and Davidson, E.H.: Genetic regulation for higher cells; A theory, Science, 165: 349~357, 1969.
  - 15) Allan, M. and Paul, J.: Transcription in vitro of an Alu family member upstream from the human  $\xi$ -globin gene, Nucleic Acids Res., 12: 1193~1200, 1984.
  - 16) Stumph, W.E., Hodgson, C.P., Tsai, M.-J. and O'Malley, B.W.: Genetic structure and possible retroviral origin of the chicken CR1 repetitive DNA sequence family, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81: 6667~6671.
  - 17) Sogawa, K., Gotoh, O., Kawajiri, K., Harada, T. and Fujii-Kuriyama, Y.: Complete nucleotide sequence of methylcholanthrene-inducible cytochrome P-450(P-450d) gene in the rat, J. Biol. Chem., 260: 5026~5032, 1985.
  - 18) Lemischka, I. and Sharp, P.A.: The sequences of an expressed rat  $\alpha$ -tubulin gene and a pseudogene with an inserted repetitive element, Nature (Lond.), 300: 330~335, 1982.
  - 19) Moore, B.W.: A soluble protein characteristic of the nervous system, Biochem. Biophys. Res. Commun., 19: 739~744, 1965.
  - 20) Zomzely-Neurath, C.E. and Walker, W.A.: Nervous system-specific proteins: 14-3-2 protein, Neuron-specific enolase, and S-100 protein, in Proteins of the Nervous System, (Bradshaw, R.A. and Schneider, D.M., eds), p.1~57, Raven Press (New York), 1980.
  - 21) Kuwano, R., Usui, H., Maeda, T., Kurihara, T., Ohtsuka, E., Ikehara, M. and Takahashi, Y.: Genetic cloning and nucleotide sequences of cDNA and genetic DNA for  $\alpha$  and  $\beta$  subunit of S-100 protein, in MOLECULAR GENETICS IN DEVELOPMENTAL NEUROBIOLOGY, (Tsukada, Y., eds), p.243~255, Japan scientific societies press (Tokyo) and VNU science press BV, (Utrecht), 1986.
  - 22) Tsutsumi, K., Mukai, T., Tsutsumi, R., Hidaka, S., Arai, Y., Hori, K. and Ishikawa, K.: Structure and genetic organization of the rat aldolase B gene, J. Mol. Biol., 181: 153~160, 1985.
  - 23) Dunnen, J.T., Moormann, R.I.M., Lubsen, N.H. and Schoenmakers, J.G.G.: Intron insertions and deletions in the  $\beta/\gamma$ -crystallin gene family: The rat  $\beta$ B1 gene, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 83: 2855~2859, 1986.
  - 24) Owens, G.P., Chaudhari, N. and Hahn, W.E.: Brain "identifier sequence" is not restricted



- to brain: Similer abundance in nuclear RNA of other organs, *Science*, **229**: 1263~1265, 1985.
- 25) **Sapienza, C. and St-Jacques, B.:** "Brain-specific" transcription and evolution of the identifier sequence, *Nature (Lond.)*, **319**: 418~420, 1986.
- 26) **Jelinek, W.R.:** Repetitive sequence in eukaryotic DNA and their expression, *Ann. Rev. Biochem.*, **51**: 813~844, 1982.
- 27) **Daniels, G.R. and Deininger, P.L.:** Integration site preference of the Alu family and similer repetitive DNA sequences, *Nucleic Acids Res.*, **13**: 839~895, 1985.
- 28) **Mckinnon, R.D., Shinnick, T.M. and Sutcliffe, J.G.:** The neuronal identifier element is a cis-acting positive regulator of gene expression, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **83**: 3751~3755, 1986.
- 29) **Kenny, S., Natarajan, V., Strike, D., Khoury, G. and Salzman, N.P.:** JC virus enhancer-promoter active in human brain cells, *Science*, **226**: 1337~1339, 1984.
- 30) **Milner, R. and Sitcliffe, J.G.:** Gene expression in brain, *Nucleic Acids Res.*, **11**: 5497~5520, 1983.
- 31) **Chaudhari, N. and Hahn, W.E.:** Genetic expression in the developing brain, *Science*, **220**: 924~928, 1983.
- 32) **Brown, I.R.:** Neuronal chromatin during development, in *ROLE OF RNA AND DNA IN BRAIN FUNCTION* (Giuditta, A., Kaplan, B.B. and Zomzely-Neurath, C. eds), p.174~181, Martinus Nijhoff Publishing (Mssachusetts), 1986.

(昭和61年9月3日受付)

---