



Title	ヒトペプチド伸長因子2 (EF-2) の遺伝子マッピング
Author(s)	金田, 安史
Citation	大阪大学, 1984, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/33957
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏名・(本籍)	か 金	た 田	や 安	ふ 史
学位の種類	医	学	博	士
学位記番号	第	6387	号	
学位授与の日付	昭和59年3月24日			
学位授与の要件	医学研究科 内科系専攻 学位規則第5条第1項該当			
学位論文題目	ヒトペプチド伸長因子2(EF-2)の遺伝子マッピング			
論文審査委員	(主査)			
	教授 熊原 雄一			
	(副査)			
	教授 岡田 善雄 教授 内田 驍			

論 文 内 容 の 要 旨

(目 的)

EF2は真核生物から古細菌に至る多くの生物に存在する分子量10万の蛋白質で、蛋白合成に必須の因子である。ペプチド伸長の際には、peptidyl-tRNAをリボソーム上で転移させる反応がおこるが、EF2はGTPの加水分解で得たエネルギーを利用してこの転移反応を行なわせ、これによりmRNAが移動してペプチド伸長が続き、細胞は蛋白質を合成することができる。EF2はconservativeな蛋白質で、現在ヒトとマウスのEF2を分離することは不可能である。一方、ジフテリア毒素は、EF2をADPリボシル化して失活させる活性をもつ。著者は、毒素の生物学的活性を利用して、EF2の染色体地図を決定した。

(方法および成績)

1) ジフテリア毒素耐性株の分離とヒト・マウス体細胞雑種の形成：ヒト胎児初代培養細胞をethyl-methane sulfonate 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ で20hr処理した後、高濃度のジフテリア毒素を作用させた。生き残ったcellは、毒素存在下でも常に50%以上の蛋白合成率を示すことから毒素耐性株であることが証明された。cell extractを過剰量のNAD存在下で過剰量のジフテリア毒素のフラグメントAで処理して蛋白あたりのADPリボシレーション活性を測定した結果、この毒素耐性株はADPリボシル化されないEF2を有することが確認された。この毒素耐性ヒト胎児細胞(核型は46-XY)と毒素感受性マウスL細胞(BrdU耐性)をHVJで融合し、HAT選択法によりhuman-mouse hybrid cloneを得た。

2) hybrid cloneの毒素感受性：緑膿菌の外毒素(PA toxin)はジフテリア毒素と同じく、EF2をADPリボシル化する活性をもつが、マウス細胞はジフテリア毒素とは異なりPA toxinに強い感受性

を示す。1)で得た hybrid clone に PAtoxin を 24hr 作用させた時の蛋白合成率を測定した結果、41clone のうち 15clone が毒素耐性であった。ADP リボシレーション活性の測定により毒素耐性 clone は ADP リボシル化されない EF2 を含むことが示された。さらに hybrid clone の extract を 2次元電気泳動にかけた結果、毒素感受性株の EF2 はフラグメント A により完全に ADP リボシル化されるのに対し、毒素耐性株の EF2 の一部は ADP リボシル化されないことが確認された。

3) 染色体分析：各々の hybrid clone の染色体は 33258-Hoechst と quinacrine mustard の 2重染色で調べられた。さらに 25 種類のアインザイムのパターンがセルロースアセテートゲル電気泳動で分析された。その結果、毒素耐性と相関するヒト染色体は第 19 染色体であった。クローニングを重ねることにより、ヒト染色体を 19 番唯一本しか含まぬ毒素耐性の hybrid clone が得られた。この第 19 染色体が失われると毒素耐性も失われた。

4) ポリオウイルス感受性：ポリオウイルスはマウス細胞には感染しないが、ヒト細胞には感染し致死作用を発揮する。ポリオウイルス感受性はヒト第 19 染色体に位置づけられている。毒素耐性の hybrid clone にポリオウイルスをかけたところ、生き残った細胞はすべて毒素感受性になった。これらの細胞は完全なマウス染色体と 19 番以外のヒト染色体をいくつかもっていた。このことは毒素耐性を与える遺伝子がヒト染色体上にあり、それは第 19 染色体であることを示唆する。また、毒素耐性株の継代を続けると毒素耐性が次第に失われることや、毒素耐性の hybrid clone をさらにクローニングすることによって、毒素耐性株と感受性株を得たことは、やはり、毒素耐性の遺伝子はヒト由来であることを裏付けている。

(総括)

hybrid clone の毒素耐性は ADP リボシル化されない EF2 によるもので、それはヒト由来の遺伝子によってもたらされること、さらに毒素耐性とヒト第 19 染色体とが相関することより、ヒト EF2 の遺伝子は第 19 染色体上にあると結論づけることができた。

論文の審査結果の要旨

本研究は、ヒトとマウスの体細胞雑種を用いて、ヒトの EF-2 の遺伝子地図を決定したものである。現在、約 800 の遺伝子が常染色体上に位置づけられているが、EF-2 のように真核生物の生命維持に必須の因子のマッピングは皆無に近かったと言ってよい。

EF-2 は highly conservative protein であり、ヒトとマウスの EF-2 を識別する手段は全くない。しかし、本研究においては、細菌毒素に対する細胞の感受性やポリオウイルス感受性を利用することによって、この問題を克服することができた。

以上より、本研究は、その結果と方法論において、十分注目されるものであり学位論文に値するものと考えらる。