The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	endo AのcDNA構造とその発現調節機構に関する研究
Author(s)	竹本, 佳弘
Citation	大阪大学, 1988, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/35971
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【14】

氏名・(本籍)	竹本佳弘（たけもと よしひろ）
学位の種類	理学博士
学位記番号	第 8062 号
学位授与の日付	昭和63年3月25日
学位授与の要件	理学研究科生物化学専攻 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	**endo AのcDNA構造とその発現調節機構に関する研究**
論文審査委員	(主査) 教授 松代 愛三 (副査) 教授 小川 英行　教授 松原 央

論文内容の要旨

マウス初期胚では，8細胞期まではすべての細胞は等価である。その後コンパクションと呼ばれる過程をへて胚盤胞形成期に最初の分化が起こる。マウスでは，この時期に発生を止める変異として，t^{12}変異が知られている。この変異は桑実胚から胚盤胞期に働き，その結果胚はコンパクションは起こすが，それを維持できずその後致死となる。このt^{12}／t^{12}の胚では，胚盤胞の栄養外胚葉の分化マーカーとして知られるサイトケラチンendo A，Bが著しく低下していることからendo Aが，初期発生を理解する上で重要な鍵を握るタンパク質の一つであると考えられる。そこでendo Aが初期発生に及ぼす影響を明らかにすることを目標として，cDNAを決定しそのタンパク構造を解析したさらにそれをコードする遺伝子の発現機構についても検討した。

1．endo A cDNAクローンの単離とその構造解析

栄養外胚葉と同様にendo Aを合成しているマウステラトカルシノーマ由来のＰＹＳ－２（Parietal yolksac－like）のＲＮＡからcDNAライブラリーを作成し，そこから約1.8kbpのcDNAクローンを得，その塩基配列を決定した。この塩基配列からendo Aは491個のアミノ酸からなるオープンリディングフレームを含み，5′に65bp 3′に259bpのnoncoding sequenceが存在した。3′のポリAtailの前には，ポリA付加配列が見られた。推定アミノ酸配列よりendo Aタンパク質は大きく3つのドメイン（head, rod, tail）からなり単層上皮のtype Ⅱケラチンと高いホモロジーを示し，それらと共通の機能を持つことが示唆された。

2．endo A genomic DNAの単離と遺伝子発現調節機構の解析。

129／Svjマウスの肝臓よりgenomic DNAを精製し，genomic libraryを作成した。endo A cDNAを

プローブにスクリーニングを行い，coding領域をすべてカバーするクローンを得た。そこでこのクローンを以下の解析に用いて，endo A遺伝子の時期及び組織特異的発現を，cisに調節する領域を同定たするためにCAT assayを行った。endo A遺伝子のプロモーターとCAT遺伝子を融合したベクターにendo A genomic DNAを挿入しＣＡＴの活性を調べた。細胞は，内部細胞塊の類似しparietal endoderm－like cellに分化できるマウステラトカルシノーマＦ９細胞を用いた。その他いくつかの細胞に関して検討した。5′上流3kbpから3′下流3kbまでの約10kbの中で調べたところ3′下流にcis－actingな調節領域が存在することが示唆された。

論文の審査結果の要旨

この研究は，マウス初期胚における最初の分化の過程で発現するサイトケチランendo Aに関して行ったものである。この研究ではendo AがtypeⅡケラチンに属する事を明らかにし，さらにその遺伝子発現調節機構に関与する領域を見出した。初期胚において働くタンパク質の役割と，その遺伝子の発現調節に関しては現在のところほとんど解明されておらず，これらの成果はその解明に重要な手がかりを与えるものと考えられる。したがってこの研究は理学博士の学位論文として十分価値あるものと認める。