

Title	マウス桑実胚より単離したヒストンcDNAの構造とその遺伝子発現
Author(s)	永田, 年
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/36085
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

【13】

氏名・(本籍)	なが	た	とし
	永	田	年
学位の種類	医	学	博士
学位記番号	第	8583	号
学位授与の日付	平成元年3月24日		
学位授与の要件	医学研究科生理系専攻 学位規則第5条第1項該当		
学位論文題目	マウス桑実胚より単離したヒストン cDNA の構造と その遺伝子発現		
論文審査委員	(主査) 教授	松代 愛三	
	(副査) 教授	松原 謙一	教授 吉川 寛

論文内容の要旨

〔目的〕 ヒストンは、真核生物においてDNAと共にクロマチンを構築する一群の塩基性タンパク質であり、とくに胚発生過程において、DNA複製にともなって活発なヒストン合成がおこなわれている。ウニにおいてはその胚発生過程で、種々のヒストンの発現がみられ、そのようなヒストンの変化が胚発生において重要であることを示唆している。今回、マウス8細胞期桑実胚 cDNA ライブラリーより、ユニークな構造をもつヒストンのクローンを単離した。このヒストンの胚発生における役割を調べる目的で、その遺伝子構造および発現を検討した。

〔方法ならびに成績〕

(1) われわれの研究室の野崎らが作製したマウス8細胞期桑実胚 cDNA ライブラリーよりヒストン cDNA の一部を単離した。これと相同性を有する転写物が、未分化な F9 テラトカルシノーマ細胞にも検出されたので、F9細胞 cDNA ライブラリーから完全長と思われるクローンを得、その塩基配列を dideoxy 法により決定した。その結果この遺伝子は 1368bp、よりなり、ヒストン H2A タンパクをコードしていることが明らかとなった。通常、ヒストン mRNA は 3' プロセッシングにより短く (約 0.5 kb) poly A tail を有さない。さらに 3' 末端に DNA の複製と連動してヒストン mRNA の安定性を支配すると考えられる stem-loop 構造をもつことがわかっている。しかし、今回得られた cDNA は、通常の 0.5kb の転写物の下流に約 1kb の 3' non-coding region が続き、その後 ATTAAA の polyadenylation signal と poly A tail を有していた。同時に、coding region の直後に 3' processing site のコンセンサス配列と stem-loop 構造も有していた。これまでこのクローンのように、

3' processingに必要な構造と poly A tail を同時にもつヒストン転写物の報告は無い。

(2) このヒストン遺伝子の発現を調べるため、各種培養細胞、およびマウス中、後期胚を用いてノザンブロットングをおこなった。その結果、未分化なテラトカルシノーマ細胞である F 9 細胞、PCC3 細胞では、この cDNA の大きさに相当する 1.4 kb の濃いバンドと弱い通常のヒストン H2A mRNA に相当する 0.5 kb のバンドが認められた。逆に分化型のテラトカルシノーマ細胞である PYS-2 細胞や L 細胞、Balb/c 3 T 3 細胞では 1.4 kb のバンドは極く弱く、0.5 kb の濃いバンドを認めた。またマウス 12, 14, 16 日胚でも 1.4 kb と 0.5 kb の濃いバンドが認められた。

(3) 1.4 kb と 0.5 kb のヒストン mRNA の安定性を調べるため、RNA 合成阻害剤であるアクチノマイシン D を F 9 細胞の培地に加え、その効果をみた。対数増殖期にある F 9 細胞にアクチノマイシン D (5 $\mu\text{g}/\text{ml}$) を加えた後、total RNA を回収しノザンブロット解析をおこなった。その結果、2 時間投与後には、0.5 kb のバンドは速やかに消失したが 1.4 kb のバンドは安定に存在した。また、シクロヘキシミドを加えタンパク合成を抑えたところ、1.4 kb のバンドの濃度はあまり変化しなかったが 0.5 kb のバンドは強く検出された。

〔総括〕

(1) マウス 8 細胞期胚で発現しているユニークなヒストン H2A 転写物は、3' 側にプロセシングに関与するコンセンサス配列を持つと同時に、長い non-coding region および poly A tail を持っていた。

(2) 未分化テラトカルシノーマやマウス後期胚では、1.4 kb のヒストン H2A 転写物が多く、分化したテラトカルシノーマや L 細胞、Balb/c 3 T 3 細胞では 0.5 kb の転写物が多く検出された。しかし、このヒストンが未分化細胞に特異的な variant かどうか、1.4 kb の転写物が 0.5 kb の転写物の直接の前駆体であるかどうかは不明である。

(3) 1.4 kb ヒストン mRNA は安定であるのに対し、0.5 kb ヒストン mRNA は不安定でこれには翻訳が関与していることが示された。

(4) このようにマウス胚や未分化細胞で、安定で特徴的な構造をもつヒストン mRNA が発現していることから、その生理的意義に興味もたれる。

論文の審査結果の要旨

本研究は、マウス 8 細胞期桑実胚および F 9 テラトカルシノーマ細胞 cDNA ライブラリーより単離された新しいヒストン H2A cDNA の構造と発現を解析したものであり、その結果、(1) このヒストン H2A cDNA が、3' 末端がポリアデニル化されたユニークな構造をもっていること。(2) この cDNA に相当する mRNA が、マウス未分化テラトカルシノーマ細胞やマウス胚で安定に存在することが明らかになった。本研究は、前例のないユニークなヒストン遺伝子転写物の発見に関するものであり、ヒストン遺伝子の役割および発現機構を解析する上で意義を有するものと評価できる。