



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	大阪大学, 1989, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/36085
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

【13】

氏名・(本籍)	なが 永	た 田	とし 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複製とともに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ニングを単離した。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ニングを得、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'プロセシングにより短く(約0.5kb) poly A tailを有さない。さらに3'末端にDNAの複製と運動してヒストン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、その後にTTAAA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ニングのように、

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に、各種培養細胞、およびマウス中、後期胚を用いてノザンプロッティングをおこなった。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、PCC 3 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が通常のヒストンH 2A 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 3T3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に、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 μg/ml)を加えた後、total RNAを回収しノザンプ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H 2A 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ともに、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H 2A 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 3T3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がもたれる。

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H 2A 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H 2A 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。