

Title	増殖刺激による $\beta$ -アクチン遺伝子発現制御機構の解析
Author(s)	織田, 聡
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	<a href="http://hdl.handle.net/11094/37706">http://hdl.handle.net/11094/37706</a>
DOI	
rights	
Note	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

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

氏名	おり 織	た 田	さとし 聡
博士の専攻分野の名称	博士（医学）		
学位記番号	第 10078 号		
学位授与年月日	平成 4 年 3 月 16 日		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当		
学位論文名	増殖刺激による $\beta$ -アクチン遺伝子発現制御機構の解析		
論文審査委員	(主査) 教授 岸本 忠三		
	(副査) 教授 鎌田 武信 教授 大河内寿一		

## 論文内容の要旨

### (目的)

生体内で細胞が増殖サイクルに入るか否かの制御点のひとつとして静止期から増殖期への移行期がある、この増殖移行期に、細胞骨格を構成するアクチンケーブル構造が変化すること及びアクチン mRNA 量が癌遺伝子、fos 及び myc の mRNA 量と共に増加する事が知られている。しかし、発現誘導されるアクチンの種類や正確な発現時期、あるいはその発現機構について詳細な検討がされておらず細胞増殖との関係は明かでない。そこで、アクチン遺伝子の発現変化を詳細に調べその制御機構を明確にすることを目的とした。

### (方法ならびに成績)

confluent な状態の Balb 3 T 3 細胞を、無血清培地で 24 時間培養し静止期に導入した。この細胞に血清あるいは増殖因子を加え、経時的に細胞核あるいは RNA を抽出し、Northern blot により mRNA 量を、run on transcription assay により転写量を測定した。このとき、誘導されるアクチンが  $\beta$ -アクチンであることを証明するため  $\beta$ -アクチン特異配列をプローブとして用いた。血清刺激により  $\beta$ -アクチン mRNA 量は徐々に上昇し約 4 時間後に横這いになるのに対し、転写量は刺激 15 分後に急激に増加した後再び低下した。アクチノマイシン D 存在下で細胞内の  $\beta$ -アクチン mRNA は殆ど減少しないことからアクチン mRNA の安定性は大きいと考えられ、その為に転写量と mRNA の時間的推移に大きな相違が生じると推定された。

次に、この転写誘導機構を調べるためヒト  $\beta$ -アクチン遺伝子上の血清応答領域の解析を行なった。種々のヒト  $\beta$ -アクチン遺伝子の 5' 側上流領域および第一イントロンの DNA 断片をクロラムフェニ

コールアセチルトランスフェラーゼ (CAT) 遺伝子につなげたプラスミドを作成し、NIH 3 T 3 細胞にトランスフェクションした後、血清刺激による CAT 遺伝子の発現変化を調べた。その結果、第一イントロン内に存在する 19 bp の配列が存在すれば血清による誘導が起こることが明らかとなった。この配列中には広くアクチン遺伝子ファミリーに存在する CC (A/T)<sub>6</sub>GG とい配列や SV 40 のエンハンサーとホモロジーのある配列が存在した。また、血小板由来増殖因子 (PDGF) でも  $\beta$ -アクチン mRNA が誘導されたことより血清中の PDGF が発現誘導に関与していると考えられた。

(総括)

$\beta$ -アクチン遺伝子の転写が、血清刺激により 15 分という短時間に誘導されることを明かした。次に、誘導に関与していると考えられる  $\beta$ -アクチン遺伝子上の 19 bp の配列を決定した。

### 論文審査の結果の要旨

増殖刺激による  $\beta$ -アクチンの発現変化について解析を行った結果、血清処理により  $\beta$ -アクチン mRNA 量は徐々に上昇するのに対し、転写量は刺激 15 分で急激に上昇するが、短時間でもとの転写レベルに戻ることを明かにした。従って  $\beta$ -アクチンの mRNA 量は、mRNA が安定であるため蓄積され、一時的な転写量の増大では大きな変化を与えないものと推定される。次に、この転写誘導は血清の増殖因子 PDGF 特異的に起こることを示した。さらに、転写誘導に関与するヒト  $\beta$ -アクチン遺伝子上の 19 bp の配列を決定した。

以上の知見は、細胞増殖における細胞骨格の維持機構に新知見を加えるもので、博士 (医学) の学位を授与するに値する。