



Title	Nucleotide sequence of mouse Tcp-1a cDNA
Author(s)	久保田, 広志
Citation	大阪大学, 1992, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/38011
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	久保田 広志
博士の専攻分野の名称	博士 (医学)
学位記番号	第 10147 号
学位授与年月日	平成 4 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学研究科 生理系専攻
学位論文名	Nucleotide sequence of mouse <u>Tcp-1</u>^a cDNA (マウス <u>Tcp-1</u> ^a cDNA の塩基配列)
論文審査委員	(主査) 教授 松代 愛三 (副査) 教授 島田 和典 教授 西宗 義武

論文内容の要旨

(目 的)

マウスt-ハプロタイプ (以下t型と呼ぶ) は、17番染色体上に4つの逆位 (t-コンプレックス, 全長4000kb) をもち、この逆位内ではt型-野性型間の組換えが抑制される。t型のホモ接合体 (t / t) は、致死か不妊であるにも関わらず、t型は、t / +ヘテロ接合体として自然界の野性集団の中に広く存在する (野性マウスの10-60%)。その理由は、t / +雄からその子供への、t型の遺伝子伝達率が異常に高いこと (t が90-99%, TRD とよばれる) による。また、t型と野性型とは、100-200 万年前に分岐したと言われている。よって、このt型は、逆位内遺伝子群の進化を考える上で重要である。

そこで、この逆位内の一遺伝子 Tcp-1 (精巢の生殖細胞で多量に発現され、TRD への部分的関与が示唆されている) について、その塩基配列を、マウスのt型 (Tcp-1^a) および野性型 (Tcp-1^a) 遺伝子と偽遺伝子、さらに他種 (ラット, ハムスター, ヒト, ショウジョウバエ) のホモログの間で比較検討した。この結果から、t型の起源と進化過程を考える。

(方 法)

野性型と、部分的にt型ホモのマウスから精巢RNAを抽出し、ポリA-RNAを調整した。これからcDNAを作製して、λZAPに組み込み、cDNAライブラリーを得た。これから、すでに知られている Tcp-1^a cDNA の塩基配列 (合成DNA) をプローブとして Tcp-1 cDNA クローンを得た。さらに、同じマウスから、ゲノムDNAを抽出し、その Sau 3 AI 部分消化断片がλEMBL 3 に組み込まれているライブラリーを作製した。これから、Tcp-1^a cDNA をプローブとしてゲノミックDNAクローンを得た。

これらのクローンの塩基配列をジデオキシ法により決定した。さらに、この塩基配列と他のホモロー

グの塩基配列から塩基置換数を算定し、これを同義置換（アミノ酸を変えない置換）と非同義置換（アミノ酸を変える置換）とに分けた。この各々およびイントロンについて、NJ法とUPGMA法で系統樹を作製した。

（結果と考察）

1) Tcp-1^a 遺伝子と Tcp-1^b 遺伝子とでは、ポリ A 付加部位が異なる

4つの Tcp-1^a cDNA と 3つの Tcp-1^b cDNA クローンの 3' 末端の塩基配列を決定した。その結果、Tcp-1^a cDNA では、Tcp-1^b cDNA に比べて 2-9 bp 下流の位置からポリ A が付加されていることがわかった。さらに、ゲノミック DNA クローンに関して、このポリ A 付加位置付近 70bp の塩基配列を決定した。この結果、ポリ A 付加部位のすぐ近くに、Tcp-1^a と Tcp-1^b との間で塩基置換が一か所だけに存在することがわかった。この塩基置換が、ポリ A 付加部位の違いの原因と考えられる。

2) Tcp-1^a 遺伝子と Tcp-1^b 遺伝子の分子進化

Tcp-1^a cDNA クローンの pTlall の全塩基配列 (1823bp) を決定したところ、Tcp-1^a は、556 アミノ酸 (Tcp-1^b と同じ) で分子量 60400 タンパクをコードしていた。この Tcp-1^a cDNA は、Tcp-1^b cDNA に対して、コーディング領域内に 15 の塩基置換を持っていた。

これまで、部分的な比較から、Tcp-1 のヒトやショウジョウバエにおけるホモログは、Tcp-1 B よりも Tcp-1^a に似ているとされてきた。本研究により、この類似性を全長において確認したが、それは比較的小さかった。また上述の比較から、マウスの先祖型 Tcp-1^b 遺伝子は、Tcp-1^a よりも Tcp-1^a に似ていたと推測されてきた。しかし、ラットの Tcp-1 ホモログは Tcp-1 A と Tcp-1 B の両方に同様に似ており、したがって、マウスの先祖型 Tcp-1 は Tcp-1 A と Tcp-1 B の両方に同様に似ていたと考えられる。この考えは、マウス Tcp-1 偽遺伝子との比較においても支持された。

また、Tcp-1 ホモログ間でアミノ酸の置換速度を計算した。すると、マウス-ヒト間およびマウス-ショウジョウバエ間で $2.4-2.6 \times 10^{-4}$ 置換/塩基/百万年という値が計算された。これは、進化的に高度に保存されているチトクロム c の置換速度より遅いので、Tcp-1 は非常によく保存されたタンパクといえる。

一方、同じ計算をマウスの t 型-野性型間で行うと、 $0.5-1.0 \times 10^{-2}$ 置換/塩基/百万年という値が計算された。t 型-野性間で、他の 19-42 倍アミノ酸置換が早まっていることになる。同義置換と非同義置換の値から別々に描いた系統樹の比較も、これを支持した。

これらの結果は、t 型-野性間で Tcp-1 アミノ酸を変えまいとする負の選択圧がヘテロ接合の状態 (t/+) で弱まっているか、アミノ酸を積極的に変えようとする正の選択圧がかかっていることを示唆している。

また、イントロンの塩基配列を比較した結果、t 型は約 300 万年前を起源とし、ごく最近になって急速に世界中の野性型マウス集団内に広まったことがわかった。人間がこの拡散をたすけた可能性が高い。

論文審査の結果の要旨

マウスt-ハプロタイプ (t型) は17番染色体上に4つの逆位をもち、この逆位内ではt型-野性型間の組換えが抑制される。さらに、t型のホモ接合体 (t/t) は、致死か不妊であるにも関わらず、t型は、t/+ヘテロ接合体として自然界の野性集団の中に広く存在する。その理由は、t/+雄からその子供への、t型の遺伝子伝達率が異常に高いこと (TRD) による。

本論文は、この逆位内の遺伝子 Tcp-1 について分子進化学的解析を行ったものである。その結果、Tcp-1^a 遺伝子 (t型) ではポリ A 付加部位直前の一塩基の置換により、Tcp-1^b 遺伝子 (野性型) に比べ2-9 bp 下流の位置からポリ A が付加されることを示した。さらに、コーディング領域において、Tcp-1^a が Tcp-1^b に対してもつ塩基置換の大部分 (12/15) がアミノ酸を変え、マウスのt型-野性型間でのTcp-1 におけるアミノ酸置換速度が、他の Tcp-1 ホモログ間の20倍以上早まっていることを示した。この結果は、t型-野性型間で、Tcp-1 のアミノ酸を変えまいとする圧力がヘテロ接合の状態 (t /+) で弱まっているか、アミノ酸を積極的に変えようとする圧力がかかっていることを示唆している。これらの結果は、TRD により伝達される t型遺伝子の特殊な進化様式を示唆したもので、学位論文として十分価値あるものと認める。