

Title	The murine cot proto-oncogene : genome structure and tissue-specific expression
Author(s)	小原, 令子
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	<a href="http://hdl.handle.net/11094/38936">http://hdl.handle.net/11094/38936</a>
DOI	
rights	
Note	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

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

氏 名	小 原 令 子
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 0 8 1 2 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 5 年 5 月 11 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	The murine <i>cot</i> proto-oncogene : genome structure and tissue-specific expression (マウス <i>cot</i> プロトオンコジーンのゲノム構造と組織特異的発現について)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 豊島久真男  (副査) 教 授 羽倉 明 教 授 野村 大成

## 論 文 内 容 の 要 旨

### (目 的)

数年前当研究室において新しい癌原遺伝子 *cot* が単離された。その後の解析によりこの *cot* 遺伝子産物は全く新しい型のセリン/スレオニン・キナーゼで、細胞質内に存在することが明らかにされてきたが、正常組織や細胞における発現は低く、細胞増殖・分化への関与及び細胞内シグナル伝達系における機能については未だ明らかにされていない。これらの問題を解決するためには、まず胎生期から成熟期に至る *cot* 遺伝子の発現組織を同定することが必要である。本研究ではこの目的のためにマウス *cot* 遺伝子を単離し、組織特異的発現を調べると共に、gene targetingの準備を整えたものである。

### (方法及び結果)

ヒト *cot* 遺伝子 cDNA の coding 領域部をプローブとして low stringency の条件下でマウス genomic library をスクリーニングしたところ、6つの positive clone を得ることができた。シーケンスを行ないこれらがマウス *cot* 遺伝子を含むことを確認したうえで、全ゲノム構造を決定するために完全長の cDNA を得ることにした。単離されたマウスゲノム遺伝子断片をプローブとして cDNA library をスクリーニングしたところ、5' UTR に及ぶ cDNA 断片が得られ、one-sided PCR 法により更に上流域の cDNA 断片をクローニングした。これらの完全長 cDNA を用いて 5' 及び 3' UTR のエクソン領域を決定し全ゲノム構造を明らかにした。その結果、マウス *cot* 遺伝子は8つのエクソンからなり、coding 領域内のイントロン-エクソン境界は全てヒト *cot* 遺伝子間で保存されていたが、他のセリン/スレオニン・キナーゼ群のプロトオンコジーン (*raf*, *mos*, *pim*) とは異なっていた。また cDNA 塩基配列及び推定アミノ酸配列の相同性はマウス-ヒト間で高く、それぞれ84.4%、93.9%であり、キナーゼ・ドメイン外の coding 領域部、3' UTR も比較的高い相同性を示していた。

次に14日胎仔、新生仔、成熟マウスの各臓器細胞質 RNA を AGPC 法により抽出し Oligotex を用いて mRNA を精製した後、単離した cDNA をプローブとしてノーザン・ブロットを行ない *cot* 遺伝子発現を調べた。その結果、発現レベルは低いものの胎仔期から成熟期に至る多くの臓器(成熟マウスでは脳、顎下腺、胸腺、肺、心臓、肝臓、

脾臓, 胃, 大腸, 骨格筋, 腎臓, 卵巣など) で *cot* 遺伝子の発現が観察された。

(総括)

マウス *cot* 遺伝子の完全長 cDNA をクローニングしゲノム構造を決定した。マウス *cot* 遺伝子は 8 つのエクソンからなり, ヒト *cot* 遺伝子と比較した結果, イントロン-エクソン境界及び cDNA 塩基配列, 推定アミノ酸配列はよく保存されていた。単離された cDNA をプローブとして, ノーザン・プロットにて胎仔, 新生仔, 成熟マウスの各臓器における *cot* 遺伝子の発現を調べたところ, 発現量は低いものの多くの臓器で *cot* 遺伝子の発現が観察された。今後これらの結果をもとに, *in situ* hybridization 法を用いて *cot* 遺伝子発現細胞を特定することや, gene targeting 法により *cot* 遺伝子の loss of function を知ることが可能であり, Cot キナーゼの機能を解明する手掛かりを与えてくれるものと思われる。

### 論文審査の結果の要旨

当研究室にて単離された癌原遺伝子 *cot* の遺伝子産物は, これまでに報告されているセリン/スレオニン・キナーゼ群の中で新しい family に属するものとして知られている。従って他のキナーゼとは異なったユニークな機能を有することが期待されるが, ヒト正常組織及び種々の細胞系における発現量は低く, その機能解析は非常に遅れている。

本研究ではマウス *cot* 遺伝子のクローニングを行ない, 胎仔期から成熟期に至る種々の組織において *cot* 遺伝子の発現があることを明らかにし, Cot キナーゼが house keeping 的な重要な機能を担っている可能性を示唆したものである。また全ゲノム構造を解析したことにより, gene targeting 法による Cot キナーゼ機能解析への道を開いたものである。よって本研究は学位論文に十分値するものと判断する。