

Title	SCR : novel human suppressors of cdc2/cdc13 mutants of Schizosaccharomyces pombe harbour motifs for RNA binding Proteins
Author(s)	金岡, 禧秀
Citation	
Issue Date	
oaire:version	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/39008">https://hdl.handle.net/11094/39008</a>
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">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> をご参照ください。

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

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

Osaka University

氏名	かな 金 おか 岡 よし 禮 ひで 秀
博士の専攻分野の名称	博 士 ( 医 学 )
学位記番号	第 1 1 5 4 2 号
学位授与年月日	平成 6 年 9 月 3 0 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	SCR : novel human suppressors of <i>cdc2/cdc13</i> mutants of <i>Schizosaccharomyces pombe</i> harbour motifs for RNA binding proteins (SCR : 分裂酵母 <i>cdc2</i> 及び <i>cdc13</i> 変異を相補する新たなヒト遺伝子は RNA 結合モチーフを有する)
論文審査委員	(主査) 教授 杉野 明雄 (副査) 教授 羽倉 明 教授 西宗 義武

## 論 文 内 容 の 要 旨

### [目 的]

細胞周期制御のメカニズムは、細胞の増殖・癌化と深く関わっている。特に G 2/M 期は染色体異常と癌化の問題において重要である。私は、分裂酵母の G 2/M 期の突然変異株 *cdc2* 及び *cdc13* を宿主とした異種間相補クローニング法により、G 2/M 期制御に関わるヒト遺伝子を単離することを目的とした。

### [方法ならびに成績]

分裂酵母の温度感受性突然変異株 *cdc2-L7 leul-32* 及び *cdc13-117 leul-32* にヒト線維芽細胞由来 cDNA ライブラリーをトランスフェクトし、23℃で一晩培養の後制限温度 (*cdc2-L7* は 33℃, *cdc13-117* は 34℃) に移し 3~5 日後出現するコロニーよりプラスミドを回収した。回収したプラスミドを再びトランスフェクトし突然変異を相補するものについて DNA シークエンスを行なった。

1x10<sup>6</sup>cfu のスクリーニングより *cdc2-L7* からは 1 種 (2B145), *cdc13-117* からは 2 種 (13B26, 13B68) の新たなヒト cDNA が単離された。ホモロジー検索の結果 13B68 は mRNA スプライシングに関与すると考えられている Polypyrimidinetract binding protein と非常に相同性が高かった。2B145 と 13B26 はそれぞれ 403, 407 アミノ酸をコードしており互いに相同性が高いことがわかった。そしてそれぞれ RNA 結合蛋白質のコンセンサス配列を 2 個持っていたため、2B145, 13B26 を Scr2, Scr3 (suppressor of *cdc 2* (*cdc13*) with RNA binding motif) と命名した。Scr2, Scr3 によって相補された細胞の形態はほぼ野生株に近く、一部伸長した (G 2 期に停止) 細胞も見られた。しかし相補しうる温度は制限温度ぎりぎりのみであった。

分裂酵母の *cdc2'* 遺伝子は *cdc13* 変異を、*cdc13'* 遺伝子は *cdc2* 変異を相補し、それぞれの遺伝子産物である *cdc2* キナーゼとサイクリン B は複合体を形成して G2/M 期進行を促進する。一方、Scr2 は *cdc2-L7* だけでなく *cdc13-117* をも、Scr3 は *cdc13-117* だけでなく *cdc2-L7* をも相補できることがわかった。Scr2, Scr3 がどのように *cdc2* 変異, *cdc13* 変異を相補するのかを知るため、野生株, *cdc2-L7*, *cdc13-117* に Scr2, Scr3 を発現させ、それぞれにおいて *cdc2'* 及び *cdc13'* の mRNA 量, 蛋白質量をノーザンブロット, ウェスタンブロット解析にて調べた。その結果

Scr2, Scr3は *cdc2'* の転写量には影響しないが, *cdc2*蛋白質量を上昇させており, *cdc2'* の翻訳レベルを正に制御することが示唆された。

最近, ヒト *c-myc* 遺伝子上流の調節配列である (A/T)CT(A/T)(A/T)T に結合する蛋白質として MSSP-1 が単離されたが, これは Scr2 と同一であることが判明した。これらのことから Scr2, Scr3 は細胞内で転写調節因子, 翻訳制御因子として働きうることが示唆された。

[総括]

分裂酵母 G2/M 期の突然変異株を宿主とした異種間発現クローニング法により RNA 結合モチーフをもつ新たなヒト遺伝子 Scr2, Scr3 を単離した。Scr2, Scr3 は分裂酵母内で *cdc2'* 遺伝子の転写量には影響しないが翻訳レベルを正に制御することが示唆された。このことは Scr2, Scr3 の動物細胞内での機能を調べるうえで重要な手掛かりになると考えられる。

### 論文審査の結果の要旨

分裂酵母の温度感受性突然変異株を宿主とした異種間発現クローニング法により, ヒトの細胞周期を制御する新規遺伝子の単離が試みられてきた。分裂酵母の *cdc2'* 遺伝子産物 *cdc2* キナーゼは *cdc13'* 遺伝子産物サイクリンと複合体を形成して G2/M 期の進行を促進するという役割を担っている。分裂酵母の *cdc2* に対するヒトホモログは既に単離されているが, 本研究では, 分裂酵母 *cdc2* 及び *cdc13* の温度感受性変異株を宿主として, それらの変異を相補する RNA 結合モチーフをもつ蛋白質の遺伝子2種類 (Scr2 及び Scr3) が新たに単離され, それらは *cdc2'* の翻訳を正に制御することで *cdc2* (*cdc13*) 変異を相補している可能性が示された。哺乳動物細胞では Scr2 と Scr3 の mRNA の発現パターンに差が認められ, これらの機能分担が示唆された。また, Scr2 は *c-myc* の発現調節にも関与する可能性がある。

これらのことは, 非常に複雑な哺乳動物細胞の細胞周期を理解する上でひとつの重要な手がかりを与えるものと考えられる。よって, 本研究は学位論文に値するものと認める。