

Title	Isolation of a novel gene down-regulated by v-src
Author(s)	潘, 静
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/39850
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

氏名	潘 静
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 12384 号
学位授与年月日	平成8年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学研究科病理系専攻
学位論文名	Isolation of a novel gene down-regulated by v-src (v-src 遺伝子によるトランスフォーム細胞で down-regulate される 新しい遺伝子の分離)
論文審査委員	(主査) 教授 羽倉 明 (副査) 教授 島田 和典 教授 秋山 徹

論文内容の要旨

[目的]

v-src 遺伝子はラウス肉腫ウイルスのがん遺伝子で、その遺伝子産物はタンパク質のチロシン残基を特異的にリン酸化する分子量60KDaのチロシンキナーゼである。v-src 遺伝子はマウスやラットの株化細胞を容易にトランスフォームすることができるが、このトランスフォーメーションが初代培養細胞では抑制されることが現在までの研究で明らかにされている。このことから、初代培養細胞内には v-src 遺伝子のトランスフォーム能を抑制する活性をもつ遺伝子が存在しており、v-src 遺伝子による細胞のトランスフォーメーションには細胞側の遺伝子が重要な役割を果たしているものと考えられる。本研究は v-src 遺伝子によるトランスフォーメーションに関与する細胞側遺伝子の分離を目的としている。

[方法と結果]

われわれはラット初代培養細胞から抽出した mRNA の発現 cDNA ライブラリーを v-src 遺伝子でトランスフォームした細胞 (SRD1 株) にトランスフェクトし、G418で選択した後、形態的に flat になったクローンを分離した。分離してきたクローンを COS7 細胞と融合させ、Hirt 法により plasmid cDNA を回収した。回収した cDNA の発現を調べたところ、そのうちの1つの cDNA が、正常細胞でかなり多量に発現されているにもかかわらず、SRD1 細胞ではほぼ完全に抑制されていた。また、v-src の温度感受性変異株を使った実験から、この遺伝子の down-regulation は v-src 遺伝子機能の発現に依存していることが明らかになった。この cDNA をプローブとして cDNA ライブラリーのスクリーニングを行うことにより、全長 cDNA を分離し、塩基配列を決定した。

この cDNA は 1.8kb でその塩基配列から 464 アミノ酸をコードする open reading frame をもち、in vitro transcription-translation system で合成されたタンパクの分子量はほぼ理論的に推測された通り約 52KDa であった。ホモロジー検索の結果この遺伝子は新しい遺伝子であることが分かった。塩基配列から推定される同遺伝子産物は細胞外ドメインと思われる N 末端側に selectin family で保存されている consensus repeat domain (CR) を 3 コと、C 末端近くに transmembrane domain (TM) を有している。これらの結果からこの cDNA は膜貫通タンパクをコードする新しい遺伝子であることが考えられ、われわれはこの遺伝子を drs (a gene down-regulated by v-src) と命名した。

drs 遺伝子は v-src のほかに v-abl, v-fps, PyMT, v-mos, v-k-ras, v-sis などのがん遺伝子でトランスフォーム

した細胞でもその発現が down-regulate されることが分かった。この遺伝子はラットのほかマウス、サル、ヒトにも保存されていることが分かった。

[総括]

われわれは正常ラット細胞では発現しているが、v-src でトランスフォームした細胞ではその発現が著しく抑制される新しい遺伝子、drs を分離した。v-src の温度感受性変異株を使った実験から、drs 遺伝子の down-regulation は v-src 遺伝子機能の発現に依存していることが分かった。この遺伝子は v-src のほかに v-abl, v-fps, PyMT, v-mos, v-k-ras, v-sis など情報伝達に関わる種々のがん遺伝子によるトランスフォーム細胞でもその発現が down-regulate されるが、細胞周期の調節により直接的に関係している HPV16E6E7 がん遺伝子でトランスフォームした細胞では変化はなかった。これらの結果から、drs 遺伝子はある特定の情報伝達経路に関わっており、この経路の下流に位置するある転写因子が drs 遺伝子の発現を調節している可能性が考えられる。今後、この drs 遺伝子の生物活性および発現調節機構を解析すると共に、ヒトのがんへの関与についても検討する予定である。

論文審査の結果の要旨

正常細胞の増殖は、それを促進する遺伝子と抑制する遺伝子の協調によって秩序よくコントロールされている。従って、細胞のがん化機構を明らかにするためにはこれら両遺伝子の解析が必須である。

本研究は抑制遺伝子の研究を目的とし、細胞増殖を促進するがん遺伝子 v-src によってトランスフォーム（培養細胞のがん化）させた時、発現がほぼ完全に抑制される新しい細胞側遺伝子の分離に成功したものである。また、この遺伝子の発現は src 遺伝子だけではなく、src 遺伝子と同様に細胞増殖促進のシグナルトランスダクションに関係した sis, ras, mos などのがん遺伝子によっても抑制されるが、細胞周期の調節に、より密接に、関係しているヒトパピローマウイルスの E6E7 遺伝子やポリオーマウイルス LT 遺伝子でトランスフォームした場合には見られないことを明らかにした。上記結果は新しく分離したこの遺伝子の発現抑制は単にトランスフォーメーションの結果として起こるのではなく、ある種の増殖促進のシグナルが有効に機能するために重要であることを示唆しており、この遺伝子は細胞増殖の抑制機構や細胞がん化機構の解明に重要な役割を果たすことが期待できるものであり、学位の授与に値するものと考えられる。