



Title	Structural organization of the rae28 gene, a putative murine homologue of the <i>Drosophila</i> polyhomeotic gene
Author(s)	Md. Abdul, Motaleb
Citation	大阪大学, 1998, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/40719
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏名 ムハメド アブダル モタレブ
 博士の専攻分野の名称 博士(医学)
 学位記番号 第13699号
 学位授与年月日 平成10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 Structural organization of the *rae28* gene, a putative murine homologue of the *Drosophila* polyhomeotic gene
 (ショウジョウバエのポリホメオティック遺伝子のマウス相同遺伝子と考えられる *rae28* 遺伝子の構造)
 論文審査委員 (主査)
 教授 島田 和典
 (副査)
 教授 西宗 義武 教授 野島 博

論文内容の要旨

【目的】

哺乳動物の発生過程で形態形成の制御がどのような遺伝子によってなされているかについては未だ明らかにされていない部分が多い。しかし、近年、発生や形態形成の制御機構は系統発生上よく保存されていることが知られ始めている。ショウジョウバエの形態形成を司るホメオティック遺伝子の制御に関わっているポリコーム遺伝子群の哺乳動物における相同遺伝子としては現在のところ *bmi-1*, *mel-18*, 及び *M33* 遺伝子が知られている。最近、我々はショウジョウバエのポリコーム遺伝子群の中の一つポリホメオティック遺伝子の遺伝子産物と特徴的なモティーフ構造やよく保存された領域を共有する新規なマウスのタンパク質をコードする *Rae28* cDNA を単離した。そこで、同遺伝子の解析をさらに進めていくために、*rae28* 遺伝子の単離と構造解析を行った。

【方法】

- 1) λ FIXII をベクターとし、129/SV マウスの肝臓から抽出した DNA から作製したゲノムライブラリーを 32 P でラベルした *Rae28* cDNA をプローブとしてスクリーニングした。陽性クローンを単離し、制限酵素により切断地図とジデオキシ法及びパーキンエルマ社の 373A 自動 DNA 解析装置を用いたサイクルシーケンス法で塩基配列の決定を行って解析した。
- 2) 第1エキソンの3'側の+114から+129に対応する合成オリゴヌクレオチド 5'-CTTCGCGCCGGCTCC-3' を [γ - 32 P] ATP 及び T4ポリヌクレオチドキナーゼでラベルし、レチノイン酸で3時間処理した F9 細胞から抽出した全 RNA にアニールさせ、逆転写酵素で伸張後、シーケンスゲルで解析し、転写開始点を決定した。
- 3) ヒト末梢血白血球、マウス肝、トリ胚、アフリカツメガエル肝、ショウジョウバエの Schneider 細胞及び酵母から抽出した高分子 DNA を制限酵素 *EcoRI* で処理した後、 32 P でラベルした *Rae28* cDNA をプローブとしてサザン法を行い、Zoo blot 解析を行った。
- 4) クローン R5 に由来する 16kb に及ぶ *rae28* 遺伝子の DNA 断片をビオチン 16-dUTP でラベルしたものをプローブとして、Fluorescence in situ hybridization (FISH) 法により解析し、染色体上の位置を決定した。

【結果】

1) 構造解析の結果、マウスの *rae28* 遺伝子は 22kb に及ぶ 15 個のエキソンからなる単一の遺伝子から構成されていた。ショウジョウバエのポリホメオティック遺伝子は相同的な遺伝子が隣接して並んで 2 個存在していることが明らかにされており、マウスとは異なっていることがわかった。*rae28* 遺伝子の翻訳開始点は第 2 エキソンの 5' 端から 45bp 下流に位置し、近傍の配列は Kozak の規則に良く一致していた。特徴的なモティーフ構造やショウジョウバエのポリホメオティック遺伝子産物と相同的な領域はそれぞれ独立なエキソンによってコードされていた。エキソン-インtron 界限においては GT-AG 規則が良く保たれているが、既に単離されている 3 種類の cDNA に対応する mRNA は alternative splicing によって生じたものと考えられた。第 15 エキソンには 2 個のポリ A 付加シグナルが存在し、転写開始点は一ヵ所であり、プロモーター領域には典型的な TATA ボックスや CCAAT ボックスは存在せず、GC に富んだ領域が存在していた。転写開始点上流には Sp1, AP2, Ets-1, Myb, GAGA, 及び CREB の結合可能な配列が存在していた。*rae28* 遺伝子の発現はレチノイン酸によって誘導されるが、今のところ知られている典型的なレチノイン酸応答配列は存在しなかった。

2) Zoo blot 解析の結果、*rae28* 遺伝子の構造がヒト、マウス、トリ、アフリカツメガエルそしてショウジョウバエで保存されている可能性が示された。また、ヒトの expressed sequence tags のデータベース上に *rae28* 遺伝子と良く似た塩基配列も見つかっており、同遺伝子が種の間で良く保存されていることを示している。

3) FISH 法で染色体上の位置を決定した結果、*rae28* 遺伝子はマウス第 6 染色体 F3 領域の一ヵ所に存在し、この領域はヒトの 12 番染色体上 p11-p13 に相同的な領域である。

【総括】

rae28 遺伝子は、第 6 染色体 F3 領域の一ヵ所に存在し、15 個のエキソンからなる 22kb の大きさの遺伝子であった。プロモーター領域には典型的な TATA ボックスや CCAAT ボックスではなく、GC に富んだ領域が存在していた。これらの構造解析の結果は、*rae28* 遺伝子の機能解析や発現制御機構の解析への第一歩となり、哺乳動物の発生や形態形成の制御機構を解析していく上での手がかりを提供するものと考えられる。

論文審査の結果の要旨

哺乳動物の発生過程で形態形成の制御がどのような遺伝子によってなされているかについては未だ明らかにされていない部分が多い。しかし、近年、発生や形態形成の制御機構は系統発生上よく保存されていることが知られ始めている。そこで、本研究ではショウジョウバエの形態形成を司るホメオティック遺伝子の制御に関わっているポリコード遺伝子群の一つポリホメオティック遺伝子の遺伝子産物と特徴的なモティーフ構造やよく保存された領域を共有するマウスの *rae28* 遺伝子の単離と構造解析を行ったものである。

rae28 遺伝子を単離し、同遺伝子が第 6 染色体 F3 領域の一ヵ所に存在し、15 個のエキソンからなる 22kb の大きさの良く保存された遺伝子であることを明らかにしている。また、転写開始点を決定し、プロモーター領域には典型的な TATA ボックスや CCAAT ボックスではなく、GC に富んだ領域が存在しているを示している。

これらの構造解析の結果は、*rae28* 遺伝子の機能解析や発現制御機構の解析への第一歩となり、哺乳動物の発生や形態形成の制御機構を解析していく上での重要な手がかりを提供するものと考えられ、学位の授与に値すると考える。