

Title	Polyadenylation-mediated translational regulation of maternal P450 (11 β) mRNA in frog oocytes
Author(s)	竹森, 洋
Citation	大阪大学, 1998, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/41206
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。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名	たけもり 竹森 洋
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学位記番号	第 14122 号
学位授与年月日	平成10年9月17日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位論文名	Polyadenylation-mediated translational regulation of maternal P450 (11 β) mRNA in frog oocytes (カエル卵母細胞における母性 P450 (11 β) mRNA のポリアデニレーションを介した翻訳調節)
論文審査委員	(主査) 教授 岡本 光弘 (副査) 教授 高井 義美 教授 竹田 潤二

論文内容の要旨

(目的)

P450 (11 β) はミネラルコルチコイドおよびグルココルチコイドの生合成の最終段階を触媒するステロイド水酸化酵素で、哺乳類では副腎皮質に特異的に発現している。近年、P450 (11 β) を含むステロイド合成酵素が副腎・生殖線以外にも血管内皮・脳などにわずかながら発現していることが報告されており、ステロイドホルモンの新たな生合成系や、役割が議論されている。両生類は脊椎動物の進化上最初にアルドステロンをミネラルコルチコイドとして利用するようになった生物種であり、その P450 (11 β) の酵素触媒様式および組織特異性の比較検討は哺乳類 P450 (11 β) ファミリーの触媒機構や生理的役割を解明するうえで重要であると考えられる。本論文ではウシガエルを利用して P450 (11 β) の組織特異的発現および酵素活性の発現調節に関して検討した。

(方法ならびに結果)

ウシガエル副腎より単離した P450 (11 β) の cDNA 断片を用いたノーザン法により組織特異性を検討したところ、ウシガエルでは卵巣においても副腎と同程度の P450 (11 β) mRNA の発現が観察された。卵巣 cDNA ライブラリーを作成し卵巣由来 P450 (11 β) cDNA をスクリーニング・構造決定した結果、卵巣では副腎と同じ配列を持つものと、ミトコンドリアへの移行シグナルをコードする部分を欠いた mRNA が発現していることが明らかとなった。それぞれを培養細胞で発現させステロイド11水酸化活性を測定した結果、副腎型タンパクではデオキシコルチコステロン・プロゲステロンの水酸化反応が検出されたが、ミトコンドリア移行シグナルを欠損するタンパクでは酵素活性は検出されなかった。

次に性ステロイド産生細胞を含む濾胞細胞層を卵母細胞から分離した後ノーザンプロット法により P450 (11 β) を発現する細胞を検討したところ、P450 (11 β) mRNA は濾胞細胞ではなく卵母細胞に蓄積しており、その発現量は卵母細胞の発育過程を通じ一定のレベルが保たれていた。しかしながら、抗 P450 (11 β) 抗体を用いたウエスタンプロット法では未成熟卵 (排卵以前の段階) では P450 (11 β) タンパクは検出されなかった。一方、排卵後に子宮より単

離した成熟卵では P450 (11 β) タンパクと11水酸化活性がミトコンドリア分画に検出された。ウシガエル P450 (11 β) mRNA の 3' 非翻訳領域には細胞質内ポリアデニレーションを介したタンパク翻訳能の亢進に関与するシス配列に類似する領域が存在することを見出したので、卵成熟前後での P450 (11 β) mRNA の poly A の長さを検討した。poly A の長さは未成熟卵では約150-200 bp であるのに対し、成熟卵では300-400 bp であった。

(総括)

1. ウシガエルの卵母細胞には多量の P450 (11 β) mRNA が蓄積しているが、その産物であるタンパクおよび11水酸化活性は検出されない。
2. 成熟後の卵内には P450 (11 β) タンパク・11水酸化活性の双方が検出された。
3. 成熟卵内の P450 (11 β) タンパクの蓄積には mRNA の poly A 伸長が伴っていた。
4. ウシガエル P450 (11 β) はプロゲステロンを基質として11水酸化プロゲステロンを産生することを明らかにした。したがって、卵成熟に伴って翻訳される P450 (11 β) は卵成熟誘起ステロイドであるプロゲステロンの代謝に関与する可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

本論文はステロイド合成酵素が生殖細胞である卵母細胞に発現するという初めての報告である。さらに P450 (11 β) が母性 mRNA として卵母細胞に蓄積しており、卵成熟時にポリアデニレーションを伴ってタンパクへの翻訳が促進される事を示した。また、P450 (11 β) 酵素が副腎皮質ステロイド以外のステロイド代謝を行う可能性を示唆しており、P450 (11 β) の機能および発現調節においても新たな領域を切り開いた点で学位に値するものと考えられる。