



Title	Genomic analysis of haploid germ cell specific genes
Author(s)	吉村, 康秀
Citation	大阪大学, 2001, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/43118">https://hdl.handle.net/11094/43118</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">〈a href="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">〈/a〉</a> 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	吉村康秀
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 16516 号
学位授与年月日	平成13年9月25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	Genomic analysis of haploid germ cell specific genes (半数体精子細胞特異的発現を示す遺伝子のゲノム構造解析)
論文審査委員	(主査) 教授 西宗 義武  (副査) 教授 北村 幸彦 教授 岡部 勝

### 論文内容の要旨

#### 【目的】

半数体生殖細胞は、精子形成における最終段階の細胞である。減数分裂を終えた生殖細胞は、半数体生殖細胞を経て精子形成へと向かう。これまでに、このステージ特異的に発現する transition protein、protamine は転写から発現まで数日間ストックされるなど、半数体生殖細胞特異的の遺伝子の発現調節はユニークであることが示唆されてきた。私は、この興味深い半数体精子細胞における転写調節領域を含めたゲノム構造に興味を抱き、このステージにおいて特異的に発現する2つの遺伝子、*Gsg3* と *Haspin*、のゲノム構造について解析を行った。

#### 【方法ならびに成績】

λEMBL3 ゲノムライブラリー (129/Sv 系統) を用いて、それぞれの遺伝子を単離し、pBluescript (II) ベクターに組み込みシーケンスを行いゲノム構造を決定した。さらに、プライマーエクステンション法によりその転写開始点を決定した。また、マウス129/Sv 系統及びヒト、ラット等のゲノムDNA を用いてサザンブロッティングを行い、翻訳領域のシーケンスデータを用いて系統樹解析を行った。

その結果、これらの遺伝子はいずれも mRNA が逆転写活性によって cDNA となり再びゲノムに入り込む所謂レトロポゾン化した、と考えられるイントロンを欠いたイントロンレス遺伝子であり、特に *haspin* に関しては他の遺伝子 (インテグリン  $\alpha$  M290) のイントロンの中に入り込んでいるユニークな構造をしていることが明らかとなった。また、マウス129/Sv ゲノム中に *gsg3* は1コピー、*haspin* は1コピーと1つの偽遺伝子が存在することが明らかとなった。さらに、1. 双方の遺伝子とも5'の転写調節領域には典型的配列である TATA 等は見られない。2. レトロポゾンの特徴的ゲノム構造である direct repeat や polyA-tail も典型的なものは見られない。3. 系統樹解析の結果、双方の遺伝子とも、その重複時期は古く哺乳類の出現以前であること、などが明らかとなった。

#### 【総括】

これらの解析結果から、半数体生殖細胞特異的発現のみられるこの2つの遺伝子に関しては、その重複時期は古い可能性が示唆され、その後は重複を起していない。*gsg3* に関しては体細胞型の相同遺伝子は存在するが、その相同性は高くない。また、*haspin* に関してはゲノム上に相同遺伝子と考えられる遺伝子は未だ見つかっていない。いずれにせよ、これら遺伝子が半数体生殖細胞特異的な遺伝子として特殊化した可能性が示唆された。

遺伝子欠損マウスを作出しその機能解析を深めるとともに、哺乳類以前の生物種において、進化上どのくらいから

これら遺伝子が出現したのかについて現在、解析を進めている。その一方で、これら遺伝子の進化速度が早い可能性も否定はできず、半数体精子細胞のステージにおける mutation frequency についてもレポーター遺伝子を利用した系を用いて解析を開始している。

#### 論文審査の結果の要旨

生殖医療の重要性が指摘されている現在、精子形成の分子レベルでの解析はそれほど進んでいるとは言えない。これまで精子形成過程の最終局面である半数体精子細胞においては、あまり多くの遺伝子は発現していないと考えられていた。本研究においては、半数体精子細胞において多種多様な遺伝子が発現していることを見出し、その中から *Gsg3* と *Haspin* という2つの遺伝子を取り上げゲノム構造解析を行った。その結果、*Gsg3* に関しては従来見つかった発現調節機構の影響下にある可能性が高いことを見出した。*Haspin* に関しては、新規のリン酸化酵素であり、それはゲノム上で別の遺伝子のイントロンの中に存在する極めて珍しいゲノム構造をしていることを明らかとした。また、これら2つの遺伝子は伴にイントロンを欠いたイントロンレス遺伝子であり、ゲノム構造の解析から、それらはレトロポゾン化してゲノムに挿入された可能性が高いことを見出した。

以上のように、本研究はこれまで解析のあまり成されていなかった精子形成過程に関与する遺伝子の発現調節に関して、新規に知見を与えた。さらに本研究においては、解析した2つの遺伝子の生成に関して‘レトロポゾン化してゲノムに加わった遺伝子’である可能性を見出し、精子形成の研究分野において、レトロポゾン化した遺伝子の関与を視野に入れる、という新たな視点を加えることとなった。以上のことから、本研究は学位論文として十分な価値があると認められる。