

Title	Gene structure and evolution of testicular haploid germ cell-specific genes, 0xct2a and 0xct2b
Author(s)	大西, 正剛
Citation	大阪大学, 2004, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/45212">https://hdl.handle.net/11094/45212</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。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

Osaka University

氏名	大西正剛
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 18494 号
学位授与年月日	平成 16 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科分子病態医学専攻
学位論文名	Gene structure and evolution of testicular haploid germ cell-specific genes, <i>Oxct2a</i> and <i>Oxct2b</i> (精巣半数体生殖細胞特異的遺伝子 <i>Oxct2a</i> と <i>Oxct2b</i> の構造と進化)
論文審査委員	(主査) 教授 西宗 義武 (副査) 教授 奥山 明彦 教授 岡部 勝

#### 論文内容の要旨

〔目的〕哺乳類の精子は精巣の精細管において、幹細胞である精原細胞からの増殖と分化、精母細胞における減数分裂、そして精子細胞の形態形成を経て完成する。その複雑な過程の中でも、減数分裂を終え半数体となった精子細胞は、引き続き、核の凝縮、ミトコンドリアの変形や鞭毛形成など、劇的な特異的形態変化を行い、完成した精子はその後受精能獲得に至る。このような体細胞には見られない特徴的な現象には、特異的な遺伝子群が重要な役割を果たすことが予想される。また精巣特異的な遺伝子には、多くの組織で発現する遺伝子を元に遺伝子重複で生じたアイソフォームが多いという報告も見られる。しかし、その実体はいまだ不明な点が多い。そこで本論文においては、半数体精子細胞特異的遺伝子が進化過程でいつどのようにして出現し、その後、どのように構造変化してきたかを解析することを目的として、体細胞でケトン体の代謝に関わる酵素である Succinyl CoA : 3-oxoacid CoA transferase (OXCT/SCOT) をコードする遺伝子の精巣型アイソフォームであるマウス *Oxct2* 遺伝子の構造解析を行った。

〔方法ならびに成績〕まず我々は、マウス *Oxct2* cDNA をプローブとして、マウスゲノミックライブラリーをスクリーニングした。そこから得られた 6 種類のゲノムクローンの制限酵素地図を解析した結果、マウス *Oxct2* は相同性の高い 2 つの独立した遺伝子からなることが明らかとなり、それぞれ *Oxct2a* および *Oxct2b* と命名した。次に各制限酵素断片をプラスミドにクローニングしてゲノムの塩基配列を決定し比較したところ、*Oxct2a* および *Oxct2b* は単一のエクソンからなる遺伝子で、お互いの相同性が非常に高く (98.4%)、さらに *Oxct* cDNA とそれぞれ 67.2% および 67.3% の相同性を示した。*Oxct* は 17 個のエクソンからなることから、*Oxct2* は *Oxct* からレトロポジションによりできた遺伝子であることが示唆された。次に遺伝子内部の CpG ジヌクレオチドの数を検討したところ、*Oxct2a* および *Oxct2b* の内部は大部分が CpG アイランドに相当するのに対して、*Oxct* では第 1 エクソンを除いて CpG ジヌクレオチドの数は少なかった。一般に脊椎動物では、CpG ジヌクレオチドはメチル化依存的な変異によって減少していることから、*Oxct* は進化の過程で他の遺伝子同様 CpG ジヌクレオチドが減少したのに対して、*Oxct2* は CpG アイランドを形成するために低メチル化状態が維持され減少しなかったと推測された。次に、*Oxct2a* および *Oxct2b* の近傍の配列についてデータベースを用いて検索した。その結果、*Oxct2a* と *Oxct2b* は第 4 染色体上の、それぞれ *Bmp8a*

および Bmp8b の第 3 イントロン内に同じ向きで存在すること、そして 2 つの遺伝子座は約 190 kb はなれて位置することがわかった。

Bmp8a-Oxct2a (BO1) 遺伝子座と Bmp8b-Oxct2b (BO2) 遺伝子座は構造が類似していることから、2 つの遺伝子座は分節的重複によって生じたと考えられた。この重複が起こった時期を推測するために、ヒトゲノムについて BO 遺伝子座を検討したところ、ヒトにおいても近傍の遺伝子を含め 2 つの BO 遺伝子座が保存されていた。このことから、BO 遺伝子座の分節的重複は霊長類・齧歯類分岐以前に起こったことが示唆された。さらに、マウスおよびヒト BO 遺伝子座についてドットプロットマトリックス解析を行ったところ、重複後に種分岐が起きたにも関わらず、種間よりも種内で高い相同性を示す領域がいくつか見つかった。このことから、種分岐後に霊長類および齧歯類の双方において BO 遺伝子座の一部が複数回の遺伝子変換を起こしたことが示唆された。このことはマウスおよびヒトの Bmp8 と Oxct2 の各エクソンを用いた系統樹解析でも同様に示された。

〔総括〕半数体精子細胞特異的 Oxct2 遺伝子は体細胞型 Oxct 遺伝子からレトロポジションによって、Bmp8 遺伝子第 3 イントロン内に単一エクソン遺伝子として生じた。その後分節的重複を起こして Oxct2a と Oxct2b となったものと考えられる。さらに霊長類と齧歯類が進化上分岐した後、それぞれの種で複数回の遺伝子変換を起こしたため種内での相同性が非常に高い。また遺伝子内部に CpG アイランドを持ち、遺伝子制御に重要な役割を果たすことが示唆された。

#### 論文審査の結果の要旨

申請者は、半数体精子細胞特異的遺伝子 Oxct2 について構造解析を行った。Oxct は肝臓で合成されたケトン体をエネルギーに変換するために必要な酵素遺伝子であり、Oxct2 はその精巢型パラログである。ゲノム構造を解析した結果、Oxct2 には互いに相同性の高い Oxct2a と Oxct2b の 2 つの遺伝子があり、それぞれ単一のエクソンからなる遺伝子で Bmp8a および Bmp8b 遺伝子の第 3 イントロンに局在することが明らかとなった。ヒト及びマウス DNA におけるこれらの遺伝子領域の一次構造を解析し、遺伝子進化の観点から比較検討した結果、Oxct からレトロポジションによって祖先型 Oxct2 が生じ、その後分節的重複を経て Oxct2a と Oxct2b に倍加し、さらに霊長類・齧歯類双方において 2 つの遺伝子座間で gene conversion が起こって現在にいたることが推測されたことにより、申請者は構造解析を通して半数体精子細胞特異的遺伝子 Oxct2 の進化の過程を明らかにし、学位の授与に値すると考えられる。