



|              |  |
|--------------|--|
| Title        | Gene expression pattern of Cue110 : A member of the uncharacterized UPF0224 gene family preferentially expressed in germ cells   |
| Author(s)    | 能村, 卓慈   |
| Citation     | 大阪大学, 2008, 博士論文   |
| Version Type |  |
| URL          | <a href="https://hdl.handle.net/11094/48980">https://hdl.handle.net/11094/48980</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=" <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> ">大阪大学の博士論文について</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         | よし能 村 良 慎   |
| 博士の専攻分野の名称 | 博士(医学)  |
| 学位記番号      | 第 21664 号   |
| 学位授与年月日    | 平成20年2月20日  |
| 学位授与の要件    | 学位規則第4条第1項該当<br>医学系研究科未来医療開発専攻  |
| 学位論文名      | Gene expression pattern of <i>Cue110</i> : A member of the uncharacterized UPF0224 gene family preferentially expressed in germ cells<br>(生殖細胞で発現する新規遺伝子 <i>Cue110</i> の解析) |
| 論文審査委員     | (主査)<br>教授 宮崎 純一<br><br>(副査)<br>教授 仲野 徹 教授 濱田 博司  |

### 論文内容の要旨

#### [目的]

特定の組織あるいは細胞で特異的に発現する遺伝子は、そこで重要な役割を果たしていると予想される。これまでに多くの遺伝子がこの発現特異性に着目されてスクリーニング、同定、機能解析され、重要な知見がもたらされてきた。我々は、主に生殖細胞で発現する遺伝子群を *in silico* で同定し、その一つとして *Cue110* 遺伝子を解析の対象とした。本研究では、機能解析の前段階として、この遺伝子の構造を決定し、配列の進化的保存性、mRNA と蛋白質の発現パターンを詳細に調べた。

#### [方法ならびに成績]

*Cue110* の臓器別発現パターンを RT-PCR により確認した。その結果、精巣と卵巣で特異的な発現がみられた。さらに未受精卵と ES 細胞でも発現が確認された。

*Cue110* 遺伝子の全長 cDNA 配列を決定するために、RACE を行った。その結果、2つの splicing variant の存在が確認されたが、蛋白質コード領域は共通であった。

データベースを用いた核酸、蛋白質配列の解析により、*Cue110* は UPF0224 family に属し、そのホモログは無脊椎動物から存在すると推定された。さらに、ホモログのアミノ酸配列の相同性検索から、N 末端領域に高い保存領域が見つかった。

成獣精巣、卵巣における *Cue110* mRNA の局在を *in situ* hybridization により調べた。その結果、精巣では preleptotene spermatocyte から round spermatid まで、卵巣では弱いながら primordial oocyte から secondary oocyte まで発現がみられた。

*Cue110* 蛋白質の細胞内局在を調べるため、その全長配列に対するポリクローナル抗体を作製し、*Cue110* を過剰発現させた HEK293 細胞を免疫染色した。その結果、*Cue110* は細胞質に局在するとわかった。

成獣精巣、卵巣における *Cue110* 蛋白質の局在を、抗 *Cue110* 抗体で免疫染色した。精巣では mRNA の局在と一致して spermatocyte と round spermatid で特異的なシグナルがみられた。細胞内局在は、上記の結果と一致して、

核ではなく細胞質にみられた。一方、卵巣ではシグナルは検出されなかった。

*Cue110*の発生期における発現パターンを RT-PCR と Western blotting 法を用いて調べた。精巣では spermatocyte が出現する時期に、mRNA と蛋白質の増加がみられた。卵巣では、mRNA は胎生 17.5 日齢より発現を認めたが、蛋白質は、胎生期、生後を通じ、明らかな発現は認めなかった。

#### [ 総括 ]

*Cue110*は、新規に同定された遺伝子であり、機能未知の保存された UPF0224 family に属し、特に高い保存性がみられた N 末端領域は、何らかの機能ドメインである可能性が示唆された。RT-PCR による臓器別発現解析では、精巣と卵巣における特異的な発現を示した。これらの組織における mRNA と蛋白質の局在を調べたところ、精巣においては、mRNA と蛋白質共に spermatocyte と spermatid に強い局在が見られ、卵巣においては、oocyte で弱い mRNA の局在が見られたものの、蛋白質は検出されなかった。spermatocyte と spermatid における *Cue110* 蛋白質の局在は、*Cue110* 過剰発現細胞における局在と一致して細胞質であった。さらに、新生仔期における *Cue110* の発現増加時期は、spermatocyte 出現時期と一致したことから、成獣精巣における局在パターンが裏付けられた。これらの結果から、*Cue110* は生殖細胞、特に雄性生殖細胞の分化に関わる可能性が示唆された。

#### 論文審査の結果の要旨

申請者は、生殖組織特異的に発現する遺伝子として同定された、新規遺伝子 *Cue110* の解析を行った。この遺伝子は UPF0224 family に属し、他の UPF0224 family 蛋白質と共に、それらの N 末端領域において種間で高く保存された領域を見出だし、この領域が新規なドメインである可能性を示唆した。そして、*Cue110* 遺伝子の精巣および卵巣における mRNA の発現と蛋白質の局在を、RT-PCR、*in situ* hybridization、Western blot、免疫染色により詳細に調べた。特に、精巣において、*Cue110* 蛋白質は spermatocyte から spermatid の細胞質に局在することを示した。これらの発現解析の結果から、*Cue110* は生殖細胞、特に雄性生殖細胞の分化に関わる可能性を示唆した。

上記に要約したように、他の UPF0224 family 遺伝子に先駆けて、マウスにおける UPF0224 family 遺伝子の 1 つである *Cue110* 遺伝子について詳細に報告した業績により、申請者である能村卓慈は、博士（医学）の学位に値するものと認める。