

Title	マウスサイトケラチンendo B遺伝子の構造とその発現
Author(s)	一瀬, 勇規
Citation	大阪大学, 1988, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/868
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

【2】

氏名・(本籍)	いちの 一	せ 瀬	ゆう 勇	き 規
学位の種類	理	学	博	士
学位記番号	第	8050	号	
学位授与の日付	昭和63年3月25日			
学位授与の要件	理学研究科生物化学専攻 学位規則第5条第1項該当			
学位論文題目	マウスサイトケラチンendo B遺伝子の構造とその発現			
論文審査委員	(主査) 教授	松代 愛三		
	(副査) 教授	松原 謙一	教授	小川 英行

論文内容の要旨

マウス初期胚発生における最初の分化は胚盤胞形成期におこり、将来胎盤の一部となる栄養外胚葉と胚体となる内部細胞塊の2つの細胞に分化する。endo Bはこの時期に栄養外胚葉で特異的に発現の開始するtype I サイトケラチンタンパクであり、同様に発現の開始されるtype II サイトケラチンのendo Aとともに中間径フィラメントを構成する。サイトケラチンは多くの分子種を持ち、各上皮系組織で別々の分子が発現されている。このように時期特異的、組織特異的に発現される遺伝子の構造や発現の制御機構を解析することは、発生分化を分子生物学的に解明する上で非常に有用である。

1. endo B遺伝子の構造の解析

endo B遺伝子はcDNAをプローブにしたsouthern blot analysisにより4-5個程の遺伝子から成る小さなgene familyを形成していることが知られている。そこで、mouse genomic DNA libraryからendo B遺伝子の17クローンを単離した。これらのクローンの構造を電気泳動のパターンやhybridization等によって解析した結果、それらは4種の分子種に分類でき、endo B cDNAに存在するEcoRI siteをもつクローンNo.4, 23についてその塩基配列を決定した。クローンNo.4はcDNAと約93%と高いhomologyを示すが、イントロンを含まないことから偽遺伝子である事が判明した。一方、クローンNo.23にはcDNAに同一な塩基配列が7つのエクソンに分断されて存在しており、またエクソン・イントロンの結合部位の塩基配列〔GT—AG〕も完全に保存されていたので、このクローンがendo Bの構造遺伝子であると結論した。更にendo B遺伝子の転写開始点をS1-マッピング法によって決定した。この転写開始点近傍の塩基配列をendo Bと協調的に発現されるendo A遺伝子と比較したところTATA BOXの上流及び5'-非翻訳mRNA領域にlocal homologyが見いだされた。このことから、

endo Bとendo Aの相伴う発現にこのような塩基配列に関連した共通の転写レベルあるいは転写後の共通な制御機構が考えられる。

また、endo Bタンパクの構造と遺伝子上のエクソンの配置の対応は他の中間系フィラメントにも共通でよく保存されている。しかし、endo B遺伝子は他のtype Iケラチンにはtailにある第7イントロンが欠失している特徴を示した。

2. マウス培養細胞株におけるendo B遺伝子の発現

培養細胞にDNAを直接導入しトランジェントな発現を調べる系は、遺伝子の発現制御機構を解析する上で極めて有効な手段である。そこでendo B遺伝子のプロモーター(-506/+63)とクロラムフェニコールアセチルトランスフェラーゼ(CAT)の構造遺伝子を接続した融合遺伝子を構築した。更に、endo B遺伝子を含む約9.7kbの領域を6つのDNA断片に分けてCATの下流に組み込んだプラスミドを調製し、endo B遺伝子が発現している遠位内胚葉性細胞(PYS-2)及び胎盤由来細胞に導入し、CAT活性を調べた。その結果、-2287/-927の上流域に転写を促進する活性が存在することが明らかとなった。

論文の審査結果の要旨

endo Bはマウス初期発生における最初の分化の過程である胚盤胞形成期に栄養外胚葉において特異的に発現の開始するtype Iサイトケラチンであり、この時期に協調的に発現するtype IIサイトケラチンendo Aとともに中間径フィラメントを構成することが知られている。

endo Bについては、そのcDNA構造と推定アミノ酸配列についての報告はあるが、その遺伝子構造及び発現の制御機構についてはこれまで知られていなかった。

本研究では、マウスのgenomic DNA libraryからendo B遺伝子ファミリー4種のクローニングを行い、その中から構造遺伝子を同定し、その特徴を明らかにした。更に遺伝子上流に転写を活性化させる領域が存在することを見出した。

中間径フィラメントは細胞内における主要タンパクの1つであるが、発現の制御に関連したDNAの領域についてはこれまで報告がなく、本論文は中間径フィラメントの発生における時期特異的、組織特異的な発現の制御機構を解明する上で重要な知見を与えるものであり、理学博士の学位論文として十分価値あるものと認める。