



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	<a href="https://hdl.handle.net/11094/868">https://hdl.handle.net/11094/868</a>
rights	
Note	

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

氏名・(本籍)	いの 一瀬 勇規
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 [G T -- A G] 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 S 1-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。更に遺伝子の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。