

氏名 高 柳 淳

学位（専攻分野） 博士（理学）

学 位 記 番 号 総研大甲第21号

学位授与の日付 平成4年 3月16日

学位授与の要件 生命科学研究科 遺伝学専攻

学位規則第4条第1項該当

学 位 論 文 題 目 Molecular Dissection of Human Thymidylate
Synthase Gene in Relation to its Cell Cycle-
Dependent Expression

論文審査委員 主 査 教 授 石 濱 明
教 授 今 村 孝
教 授 杉 山 勉
教 授 中 辻 憲 夫（国立遺伝学研究所）
助教授 佐 野 芳 雄
教 授 松 橋 通 生（東海大学）

論文内容の要旨

チミジル酸合成酵素 (thymidylate synthase, 略称 TS) は、DNA 合成に必要な前駆体 dTMP を de novo で合成する、細胞の増殖に必須な酵素の一つである。ヒト正常2倍体繊維芽細胞内でのTSの発現は、細胞を低血清培地中で休止期に同調するとTS mRNA量、酵素活性ともに非常に低い値を示すが、次に血清を加えて増殖期に誘導した場合、DNA合成開始に先だて両者とも急激に増加し休止期の20倍近くまで達する。ヒトTS遺伝子は7つのエクソンと6つのイントロンより構成され、他の増殖関連遺伝子と同様に、プロモーター領域は、GC含量が高くCAAT box、TATA boxが見あたらず、転写開始点も複数存在する。

本論文申請者は、ヒトTS遺伝子の細胞周期の進行に伴った発現制御の機構を解明することを最終目標として、遺伝子上のそのような発現制御に関わる領域を同定することを試みた。そのために、ヒトTS遺伝子から5'上流プロモーター領域やイントロンを欠く各種ミニ遺伝子を作製し、ラット3Y1TS欠損株(3Y1TS-6)に導入し、得られた形質転換体でのヒトTS遺伝子の発現を調べた。G0期からS期に進行するときのヒトTS mRNA量およびTS酵素活性量の増殖に相関した正常な調節には、TS遺伝子の5'上流域とイントロン1の両者が同時に必要であることが判明した。ところが、各形質転換細胞より核を単離し、nuclear run-on解析を行い転写活性の変化を調べたところ、どのミニ遺伝子においてもG0期、S期に関わらず一定速度で転写されていることが明らかになった。さらに、actinomycin Dを用いた追跡実験から、G0期とS期においてTS mRNAの半減期には差はなかった。これらの観察から、申請者は、TS遺伝子の5'上流域とイントロン1によるmRNA量の調節は、一次転写産物から成熟mRNAに加工される間に行われることを示唆した。

論文の審査結果の要旨

DNA合成に必要な基質のd T T Pの前駆体d T M Pをde novoで合成する酵素T S（チミジル酸合成酵素）の活性とそのm R N A水準は、細胞増殖と相関して増減する制御をうけていることが知られている。細胞周期に同調したT S活性の制御機構を解析する目的で、申請者はヒトT S遺伝子上での細胞周期に応答するシグナルの同定を目指した研究を実施した。すでに単離されているヒトT S遺伝子は、7つのエクソンと6つのイントロンより構成されている。申請者は、ヒトT S遺伝子とそのc D N Aを出発材料として、各種の組換え体遺伝子を作製し、それらをT S遺伝子を欠くラット細胞株3 Y 1に導入して、細胞周期応答性を調べた。m R N A蓄積量とT S酵素活性を調べて、T S遺伝子の5'上流域と、イントロン1のいずれもが、細胞周期依存性の制御に関与することを示した。イントロン内部にも、細胞周期応答シグナルがあることは、大変興味深い発見である。

一方、単離核を用いて調べると、T S遺伝子の転写活性に細胞周期依存性はなかった。従って、転写後に、m R N A蓄積量で細胞増殖に依存して差を生ずる機構があることが示唆されるが、その機構の解明は今後の課題として残された。

本論文は、これらの研究の目的・方法と材料・結果を簡潔にまとめた上、適切な推論をしている。よって博士論文にふさわしい内容であると判断された。