

氏 名	美 川 智
学位(専攻分野)	博 士 (農 学)
学位記番号	農 博 第 835 号
学位授与の日付	平成 7 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
研究科・専攻	農学研究科農芸化学専攻
学位論文題目	STRUCTURAL ANALYSIS AND EXPRESSION OF THE GENES FOR GOAT GROWTH HORMONE AND INSULIN- LIKE GROWTH FACTOR-I (ヤギ成長ホルモン及びインスリン様成長因子-I 遺伝子の構造解析並 びに発現)
論文調査委員	(主 査) 教授 駒野 徹 教授 佐々木隆造 教授 内海 恭三

### 論 文 内 容 の 要 旨

本論文はヤギの成長ホルモン (GH) とインスリン様成長因子-I (IGF-I) の遺伝子の構造, 及び種々の組織における発現様式を解析し, マウス前駆脂肪細胞における IGF-I の発現調節機構を明らかにしたものである。

第 1 章ではヤギ GH 遺伝子の構造解析を行った結果について述べている。ヤギゲノム DNA ライブラリーより 3 種類の GH 遺伝子 (gGH 1, gGH 2, gGH 3) を単離し, それぞれの遺伝子の近傍には, 上流に 1 つ, 下流に 3 つの繰り返し配列が存在することを明らかにした。これらの繰り返し配列はウシプロオピオメラノコルチン遺伝子, ヤギ $\beta$ -グロビン遺伝子の近傍に存在するものと相同性があり, 偶蹄類に特有の繰り返し配列であることが示唆された。また一つがいのヤギとその 3 匹の子供の GH 遺伝子をゲノムサザンハイブリダイゼーションにより調べ, gGH 1, gGH 2, gGH 3 のコピー数に遺伝的多形が存在することを明らかにした。

第 2 章ではヤギ IGF-I 遺伝子及びその転写産物について構造解析を行っている。すなわち, ヤギ IGF-I cDNA 及び遺伝子を単離し, ヤギ IGF-I 遺伝子は 3 つのリーダーエクソン (エクソン 1 W, 1, 2) を含む 6 つのエクソンからなることを明らかにした。また IGF-I 遺伝子よりリーダーエクソンの選択的スプライシングによる 3 種類の成熟 mRNA (クラス 1 W, 1, 2), エクソン 1 W とエクソン 1 の 3' 側の部分をともに含む 4 種類目の成熟 mRNA (クラス 1 W-1 del.) が発現していることを確認した。この 4 種類の mRNA がコードするヤギ IGF-I 前駆体は同一の成熟 IGF-I を含み, シグナルペプチドのみが異なっていた。またプライマーエクステンション法により 3 つのリーダーエクソンの転写開始点を決定した。

第 3 章では 4 種類の IGF-ImRNA の発現を各発育段階の個体の様々な組織で調べ, クラス 1 はほとんどすべての組織で, クラス 2 は肝臓, 子宮, 卵巣, 未成熟個体の筋組織で, クラス 1 W と 1 W-1 del. は肝臓

と成体の子宮、卵巣で発現していることが明らかとなった。

第4章ではマウス前駆脂肪細胞 Ob1771 の分化誘導時における IGF-I の発現制御機構について調べている。Ob1771 においては GH により IGF-ImRNA の転写が誘導されるが、脂肪細胞への分化には GH とともに外来の IGF-I を加える必要があることから、IGF-I の翻訳には GH 以外の因子による調節があることが示唆された。マウスの3種類 IGF-ImRNA (クラス1, 1 del., 2), 及び IGF-I タンパク質の分化誘導時における発現を調べた結果、培地に GH と IGF-I の両方を加えたときにはクラス1 mRNA が発現し IGF-I タンパク質が翻訳されるが、GH のみではクラス1 del. mRNA が発現し、IGF-I タンパク質は翻訳されないことが確認された。また Ob1771 より培地中に分泌された IGF-I は分化誘導活性をもつこと、及び外来の IGF-I は分化誘導の初期に必要とされることなども明らかとなった。Ob1771 より分泌された IGF-I はオートクリン/パラクリン的に働き、内因性の IGF-I タンパク質の産生を誘導することができるので、外来の IGF-I は内因性の IGF-I の産生を開始させることにより細胞の分化を誘発することが示唆された。

### 論文審査の結果の要旨

動物の成長には成長ホルモン (GH) とインスリン様成長因子-I (IGF-I) が重要な役割をもっているが、本論文はこれらの遺伝子の構造、発現様式、及び発現調節機構を明らかにしようとしたものであり、評価すべき点は次の通りである。

1. ヤギゲノム DNA ライブラリーより3種類の GH 遺伝子 (gGH 1, gGH 2, gGH 3) を単離し、構造を解析した結果、これらの近傍には繰り返し配列が存在することが明らかとなった。これらの繰り返し配列はウシプロオピオメラノコルチン遺伝子及びヤギ $\beta$ -グロブリン遺伝子の近傍に存在するものと相同性があり、偶蹄類に特有の繰り返し配列であることが示唆された。gGH 1, gGH 2, gGH 3 のコピー数には遺伝的多形が存在することも明らかとなった。
2. ヤギ IGF-I cDNA 及び遺伝子を単離し、構造を解析した結果、ヤギ IGF-I 遺伝子は3つのリーダーエクソン (エクソン1 W, 1, 2) を含む6つのエクソンからなり、4種類の成熟 mRNA (クラス1 W-1 del., 1 W, 1, 2) を発現していることが明らかとなった。この4種類の mRNA がコードするヤギ IGF-I 前駆体は同一の成熟 IGF-I を含んでいたが、シグナルペプチド部分が異なっていた。またプライマーエクステンション法により3つのリーダーエクソンの転写開始点を決定した。
3. 4種類の IGF-ImRNA の発現を发育段階の異なる個体の様々な組織で調べ、クラス1 はほとんどすべての組織で、クラス2 は肝臓、子宮、卵巣、子供の筋組織で、クラス1 W と1 W-1 del. は肝臓と成体の子宮、卵巣で発現していることを明らかにした。
4. マウス前駆脂肪細胞 Ob1771 の分化誘導時において GH と IGF-I の両方を用いたときにはクラス1 IGF-I mRNA が発現し、IGF-I タンパク質の翻訳が起こるが、GH のみではクラス1 del. IGF-I mRNA が発現し、IGF-I タンパク質が産生されないことを明らかにした。また Ob1771 より培地中に分泌された IGF-I には分化誘導能を有すること、外来の IGF-I は分化誘導の初期に必要とされることを明らかにした。これらの結果は、Ob1771 の分化誘導時には GH により IGF-I mRNA の転写が誘導されるが、IGF-I mRNA が翻訳されるにはさらに外来の IGF-I が Ob1771 に作用することが

必要であること、また外来の IGF-I は内因性の IGF-I の産生を誘導することにより細胞の分化を誘発することを示唆している。

以上のように、本論文はヤギの GH 及び IGF-I 遺伝子の構造解析と発現調節を明らかにしたもので核酸の生化学、分子生物学、及び分子育種学に寄与するところが大きい。

よって、本論文は博士（農学）の学位論文として価値のあるものと認める。

なお、平成7年2月14日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士（農学）の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。