



## Human c-ros-1 Gene Homologous to v-ros Sequence of UR2 Sarcoma Virus Encodes for a Transmembrane Receptor-like Molecule

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-23 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 松七五三, 仁 メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10271/892">http://hdl.handle.net/10271/892</a>

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

学位記番号	医博第 39号	学位授与年月日	昭和61年 3月26日
氏名	松七五三 仁		
論文題目	Human c-ros-1 Gene Homologous to v-ros Sequence of UR2 Sarcoma Virus Encodes for a Transmembrane Receptor-like Molecule (ヒト細胞性癌遺伝子 c-ros-1 の解析—その遺伝子より予想される膜レセプター様分子構造)		

医学博士 松七五三 仁

論文題目

Human c-ros-1 Gene Homologous to v-ros Sequence of UR2  
Sarcoma Virus Encodes for a Transmembrane Receptor-like  
Molecule

(ヒト細胞性癌遺伝子 c-ros-1 の解析—その遺伝子より予想される膜レセプター  
様分子構造)

論文の内容の要旨

RNA腫瘍ウイルスはゲノムの中に癌遺伝子(v-onc)を持ち、v-oncは正常細胞の遺伝子、細胞性癌遺伝子(c-onc)に由来することが明らかにされてきた。ヒトの悪性腫瘍細胞においてc-oncの発現異常や構造変化があい次いで報告され、悪性腫瘍の発生・増殖・進展にc-oncが深い関わり合いを持つものと思われている。そこで我々は、トリ肉腫ウイルスUR2が持つ癌遺伝子v-rosと関連のあるヒト細胞性癌遺伝子c-rosについて分子クローニングを試み、そのひとつの構造をほぼ全領域について明らかにした。

〔方法〕 Southern-blot法、Benton-Davis法を用いたハイブリダイゼーションの条件は、ホルムアミドを20～50%加えることで調節した。プローブは、アガロースゲル電気泳動にて精製したDNA断片をNick-Translationにより標識して用いた。DNA塩基配列の決定はM13-ジデオキシ法を用いた。

〔結果・考察〕 v-ros特異的プローブを用いたSouthern-blot法による解析結果から、ros遺伝子も他の癌遺伝子と同様に広く生物界に保存されているものと思われた。上述の方法を用いると、ヒト胎盤DNAを制限酵素、BamH Iで切断した場合には15Kbと10Kbにバンドが認められたので、それぞれのDNAをCharon 30ベクターに組み込み、Benton-Davis法にてスクリーニングした。独立な4種のクローンを単離して、それぞれのDNA塩基配列を決定したところ、ひとつのクローン、HYuros 8はニワトリc-ros遺伝子に対応するヒトc-ros遺伝子の一部を含むものと思われた。一方、v-rosに関連する別のヒト遺伝子も得られているので、上述の遺伝子をヒトc-ros-1と命名した。

ヒトゲノムDNAライブラリーを作製し、HYuros 8を基点にgene walkingを開始した。約60KbにおよぶDNAを分子クローニングし、その約32Kbの制限酵素地図の作成と、DNA塩基配列の決定から、少なくとも10個のエクソンが約26Kbにわたって存在することが明らかとなった。DNA塩基配列から予想されるヒトc-ros-1遺伝子産物のアミノ酸配列と、v-rosを含むキナーゼグループ、さらにヒトインスリンレセプター遺伝子のアミノ酸配列とを比較したところ、ヒトc-ros-1遺伝子産物はv-rosと高い類似性を示し(73%)、キナーゼドメインとそのN末側にトランスメンブレンドメインを有しており、さらにv-ros以外のキナーゼグループには認められない、v-rosとの共通の特徴を有していた。以上の結果より、我々が分子クローニングしたヒトc-ros-1遺伝子は、v-rosが由来したニワトリc-ros遺伝子に対応するヒトの遺伝子であることが明らかとなった。又、ros遺伝子はインスリンレセプター遺伝子とよく類似しており、同一の遺伝子である可能性も報告されていたが、塩基配列の比較の結果から、インスリンレセプター遺伝子とは異なる遺伝子であると結論した。

さらに我々は、UR2に取り込まれなかった細胞外ドメインの一部と思われるエクソンも同定しており、ヒトc-ros-1遺伝子産物も、v-fms(CSF-1レセプター)やEGFレセプター、インスリンレセプターと同様にN末側より、細胞外ドメイン、トランスメンブレンドメイン、キナーゼドメインを有するものと思われた。このことは、ヒトc-ros-1は、細胞の増殖・分化因子のレセプターをコードする可能性を強く示唆している。

一方、ヒトc-ros-1遺伝子産物のC末側は、v-rosとの類似性が認められなかった。この点についていくつかの可能性を考察した。

## 論文審査の結果の要旨

Retrovirus (Reverse transcriptase-containing oncogenic virus) が持つ癌遺伝子 *v-onc* は、正常細胞に存在して *v-onc* と相同性を持つ細胞性原癌遺伝子 (*c-proto-onc* または *c-onc*) に由来するとされている。したがって、*c-onc* の産物の構造、生理的機能、あるいは発癌機構や癌形質の維持機構における *c-onc* の役割等の解明は極めて大切である。

申請者は本研究において、トリ肉腫ウイルス UR 2 が持つ癌遺伝子 *v-ros* と関連のあるヒト細胞性発癌遺伝子 *c-ros* を 2 段階クローニング法により単離し、そのうちの一つ、*c-ros-1* の構造を、制限酵素地図の作成と DNA 塩基配列の決定により解析した。その結果、この *c-ros-1* は *v-ros* が由来したニワトリ *c-ros* に対応するヒトの遺伝子であることが明らかにされた。また、本遺伝子中には、少なくとも 10 個のエクソンが約 26 kb にわたって存在し、その産物は、糖が結合し得る部位を持つ細胞外領域 (エクソン 1)、膜貫通領域 (エクソン 2 と 3)、およびチロシンキナーゼ領域 (エクソン 4-10) からなる "Transmembrane protein" であるらしい (遺伝子の塩基配列から推定) ことが明らかとされた。

同様の構造を持つ遺伝子としては、他の細胞性原癌遺伝子である *c-erbB* と *c-fms*、およびインスリン受容体の遺伝子が知られている。同化ホルモンのインスリンに細胞増殖作用がみられることはよく知られており、また *c-erbB* と *c-fms* はそれぞれ、上皮成長因子受容体の遺伝子、"Macrophage colony stimulating factor (CSF-1)" 受容体の遺伝子と密接に関連するとされているので、今回の申請者の研究から、*c-ros-1* の産物は何らかの成長促進因子に対する受容体分子であることが強く示唆された。

トリ肉腫ウイルス UR 2 の *v-ros* のチロシンキナーゼ領域塩基配列に対応するアミノ酸配列がヒトインスリン受容体チロシンキナーゼ領域のそれと類似していることから、*c-ros* とインスリン受容体の遺伝子は同一ではないかという考えもあったが、この可能性は今回の研究により否定された。

以上のように、本研究は非常に重要な課題についてのすぐれた研究であり、その意義は大きい。技術的にも、工夫されたレベルの高い方法が駆使されており、他の研究の参考になるものを含んでいる。トリ *v-ros* のフラグメントをプローブとして種差が大きいヒト *c-ros* のクローニングに成功したのは、*v-ros* フラグメントとハイブリダイズするヒト *c-ros* フラグメントを第二プローブとして用いる二段階法を採用したことに負うところが大きいと思われる。更に、別にクローニングしたニワトリ *c-ros* の 5' 末端側フラグメントをプローブとすることにより、*v-ros* には取込まれていないエクソン 1、すなわち産物の細胞外領域に対応すると推定されるエクソンが *c-ros-1* 中に見出され、そのために *c-ros-1* の産物の全体像がより明らかとなったことは高く評価される。

審査委員会において、申請者によりなされた口頭発表と論文内容について審議した結果、以上の理由で、本論文は学位授与に値する十分な内容を備えていると、全員一致で判定した。

論文審査担当者	主査	教授	市山	新			
	副査	教授	藤田	道也	副査	教授	吉田 孝人
	副査	助教授	小山	照夫	副査	助教授	西村 正彦