

(3)

氏名(生年月日)	ナガ イ マ リ コ 永 井 真 理 子
本 籍	
学位の種類	博士(医学)
学位授与の番号	甲第 334 号
学位授与の日付	平成 12 年 6 月 16 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当(医学研究科専攻, 博士課程修了者)
学位論文題目	<b>Identification of the full-length KIAA0591 gene encoding a novel kinesin-related protein which is mapped to the neuroblastoma suppressor gene locus at 1p36.2</b> (神経芽細胞腫の抑制遺伝子の存在する 1p36.2 に局在する新規のキネシン関連遺伝子 KIAA0591 の分子生物学的特性の解析)
論文審査委員	(主査) 教授 堀 智勝 (副査) 教授 小林 檣雄, 岩田 誠

### 論 文 内 容 の 要 旨

#### 〔目的〕

KIAA0591 はヒト染色体 1 番短腕 36 領域に発見された遺伝子である。この領域は神経芽細胞腫をはじめ多くの癌で遺伝子の変異や欠失などの異常が見られ癌抑制遺伝子が局在している可能性が最も高い部位である。よってこの遺伝子が癌抑制遺伝子である可能性が考えられ、それを確認するべく実験をはじめたが、その後これが運動蛋白の一種であるキネシンに類似した構造を持つことがわかり、その分子生物学的特性に関心が持たれ、その解明のため種々の実験を行った。

#### 〔対象および方法〕

スクリーニングとシーケンス: KIAA0591 の断片を、その全長を確保するため、ヒトの黒質由来の Lambda Zap II cDNA library をスクリーニングした。プローブは KIAA0591 の 5' 側 263 bp を使用した。最終的に得たうちの 5 クローンをシーケンスとして全長を決定した。

FISH (fluorescence *in situ* hybridization): ビオチンラベルされた PAC クローンをプローブとして用いた。

RT-PCR SSCP (single strand conformation polymorphism): 神経芽細胞腫の primary 8 サンプル, cell line 15 サンプル, プライマーは KIAA0591 の翻訳領域を含む 20 プライマーセットを用いた。

Genomic Southern: ヒト胎盤由来の高分子ゲノム

DNA を各制限酵素で切断し、電気泳動した。プローブは 3' 側非翻訳領域の一部を用いた。

RNA blot: Clontech の human RNA master blot および human multiple tissue Northern blot を使用した。

#### 〔結果〕

スクリーニングの結果、KIAA0591 の上方欠損部で開始コドンを含む領域をクローニングすることができ、全長を確保できた。シーケンスにより、この遺伝子は全長 5769 bp であり、4143 bp の翻訳領域を有し 1338 アミノ酸をコードすることがわかった。FISH の結果、ヒト染色体 1 番短腕の 36.2-36.3 に局在することがわかった。SSCP の結果 band shift が 6 つ見られたが、解析の結果、全てポリモルフィズムであった。Genomic Southern の結果、KIAA0591 は single copy gene であることがわかった。RNA blot の結果、ヒトにおいて脾臓や大腸を除いて広範囲に発現しているが、成人、胎児ともにとりわけ脳組織に多く発現していることがわかった。

#### 〔考察〕

KIAA0591 は motor domain を有さないキネシン関連遺伝子の初めての報告である。このことより molecular motor としての機能は否定されるが、この遺伝子が神経系組織に広く出現しているところから、neuronal survival に関与している可能性は大いに考えられる。また、axonal transporter である ATSV と高い相

同性を有していることから細胞内オルガネラの軸索輸送において negative regulator として機能している可能性も考えられる。今回の実験では機能解析までにはいたらなかったが、今後は細胞内局在, cell growth への関与の有無, さらに抗体を使用した種々のアッセ

イによる機能的な特徴の解明が期待される。

〔結論〕

今回の一連の実験で、当初の目的であった神経芽細胞腫の抑制遺伝子の可能性は否定されたが、他の癌においてはまだその可能性は残っている。

## 論文審査の要旨

KIAA0591 はヒト染色体 1 番短腕 36 領域に発見された遺伝子である。この領域は神経細胞芽細胞腫をはじめ多くの癌で遺伝子の変異や欠失の異常が見られ癌抑制遺伝子が局在している可能性が最も高い部位である。また運動蛋白の 1 種であるキネシンに類似した構造を持ち、その分子生物学的特性解明のため検討した。まず KIAA0591 の全長が確保でき、遺伝子は 5769 bp で 4133 bp の翻訳領域を有し、1338 アミノ酸をコードする。ヒトにおいて広範囲に発現しており、成人、胎児ともにとりわけ脳組織に多く発現していた。また axonal transporter である ATSV と高い相同性を有していることから細胞内オルガネラ軸索輸送に関与の可能性もあり、細胞内局在、細胞成長への関与など機能的特徴の解明が必要である。

今回神経芽細胞腫の抑制遺伝子である可能性は否定されたが、他の腫瘍において抑制遺伝子として働く可能性もある。

本研究は新知見をもたらし、学術水準を高め、学位に値する研究と判断した。

### 主論文公表誌

Identification of the full-length KIAA0591 gene encoding a novel kinesin-related protein which is mapped to the neuroblastoma suppressor gene locus at 1p36.2 (神経芽細胞腫の抑制遺伝子の存在する 1p36.2 に局在する新規のキネシン関連遺伝子 KIAA0591 の分子生物学的特性の解析)

International Journal of Oncology (掲載予定)  
Mariko Nagai, Shingo Ichimiya, Toshinori Ozaki, Naohiko Seki, Motohiro Mihara, Shigeyuki Furuta, Miki Ohira, Nobumoto Tomioka, Nobuo Nomura, Shigeru Sakiyama, Osami Kubo, Kintomo Takakura, Tomokatsu Hori, Akira Nakagawara