

Title	ヒト甲状腺刺激ホルモン β サブユニット遺伝子のクローニング
Author(s)	林崎, 良英
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/35252
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

氏名・(本籍)	はやし 林	ざき 崎	よし 良	ひで 英
学位の種類	医	学	博	士
学位記番号	第	7 2 2 3	号	
学位授与の日付	昭和 61 年 3 月 25 日			
学位授与の要件	医学研究科 内科系専攻 学位規則第 5 条第 1 項該当			
学位論文題目	ヒト甲状腺刺激ホルモン β サブユニット遺伝子のクローニング			
論文審査委員	(主査) 教授 宮井 潔 (副査) 教授 松原 謙一 教授 吉川 寛			

論 文 内 容 の 要 旨

(目 的)

ヒト甲状腺刺激ホルモン (hTSH) は, α , β のサブユニットから成る糖タンパクホルモンの一つである。 α 鎖は性腺刺激ホルモン (LH, FSH, HCG) と共通であり, その遺伝子は既にクローニングされている。これに対し, β 鎖は各ホルモンに特有でありそれぞれの機能を担っている。特に TSH β についてはラット・マウス・ウシの cDNA が得られているのみで, 遺伝子については, 全く明らかにされていない。遺伝性の TSH 異常疾患やヒト TSH 分泌機構の解明には, 遺伝子レベルでの解析が必須と考えられる。そこで, 本研究ではヒト TSH β 遺伝子のクローニングを試み, その構造決定を行った。

(方 法)

まず, ウシ TSH β cDNA のコード領域 320 bp をプローブとし, ヒトゲノム DNA について, Southern blot を行うと, Hind III, Pvu II, Bgl II で 17 kbp, 2.0 kbp, 4.4 kbp のシングルバンド, EcoR I で 2.2 kbp, 3.2 kbp の二本のバンドが出現する。そこで, ヒト肝 DNA を EcoR I で完全消化し, λ Charon 28 EcoR I site へつないだもの, 或いは, ヒト白血球 DNA を EcoR I で消化, 電気泳動後, 上記のバンドに相当する部位をアガロースゲルより切り出し, それを PBR 325 にクローニングしたものを出発材料として, EcoR I 2.2 kbp, 3.2 kbp の断片をクローニングした。

得られたクローンは, 制限酵素地図作成後, M13 法にて塩基配列の決定を行った。

(結 果)

これらのクローンの塩基配列から, 従来のヒト TSH β のアミノ酸配列と比較して, クローニングされた EcoR I 3.2 kbp 2.2 kbp の断片上に, TSH β 遺伝子が存在することが判明した。それにより次の

ようなことが明らかとなった。

1) hTSH β 鎖の前駆体は138ケのアミノ酸から成る。20アミノ酸のシグナルペプチドにつづき、112アミノ酸の分泌型ペプチド、さらにC末端に翻訳後除去されると考えられる6アミノ酸の構造をとっている。また、従来分泌型アミノ酸の配列で、8番目、9番目のアミノ酸はMet, Thrと報告されているが、これは、Thr, Metであると訂正された。

2) コード領域には、約460bpの比較的小さなイントロンが1ケ存在する。

3) ゲノミックサザンブロットにより、hTSH β 鎖遺伝子は、シングルコピーであることが示唆された。

(考 察)

hTSH β 鎖遺伝子の5'非翻訳領域、及び5'フランキング領域については、現在のところ

① ヒト下垂体mRNAが入手困難なこと、

② 現在cDNAレベルでクローニングされているマウス、ウシ、ラット等の動物とヒトの塩基配列を比較すると5'非翻訳領域に全くホモロジーがないのでハイブリダイゼーションで検出できない。という理由により明らかにされていない。

一方、3'非翻訳領域については、これらの種の動物のcDNAと比較して、polyAシグナルは終止コドンより51bp~56bp下流のAATAAAであり、70~80bp位下流にpolyadenylation siteがあると推測される。

前駆体C末端の疎水性6アミノ酸の構造は動物種間で比較的保たれている。この機能についての現在の推測であるが、①翻訳後除去されることにより β 鎖のコンフォメーションが変わり、 α 鎖との結合能の獲得等に代表されるような、TSH β 鎖がより成熟した形態になること、②C末端に存在するシグナルペプチドとしての機能等々が考えられる。

(総 括)

ヒトTSH β 鎖遺伝子をクローニングし、構造解析の結果、次のような知見を得た。

① ヒトTSH β 鎖遺伝子はシングルコピーである。

② 前駆体は138アミノ酸から成り、20アミノ酸のシングルペプチド、112アミノ酸の分泌型ペプチド、さらにC末側疎水性6アミノ酸の構造をとる。

③ コード領域に約460bpの比較的小さなイントロンが1個存在する。

論文の審査結果の要旨

甲状腺刺激ホルモン β サブユニット (TSH- β) については、ラット、マウス、ウシのcDNAが得られているのみで、その遺伝子構造については全く明らかにされていなかった。そこで本研究ではウシTSH β -cDNAをプローブとして、ヒトTSH β サブユニット遺伝子をクローニングしその構造を決定した。これにより遺伝性TSH異常疾患の原因解明やTSHの生成調節機構の解明に役立つと思われ、学位

論文として価値あるもの考える。