

Title	2種のヒト膵臓トリプシノーゲンcDNAのクローニングとその構造
Author(s)	江見, 充
Citation	大阪大学, 1986, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/35590
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名・(本籍)	江 見 充
学位の種類	医 学 博 士
学位記番号	第 7453 号
学位授与の日付	昭 和 61 年 10 月 13 日
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 2 項該当
学位論文題目	2 種のヒト膵臓トリプシノーゲン cDNA のクローニングとその構造
論文審査委員	(主査) 教 授 森 武貞 (副査) 教 授 松原 謙一 教 授 吉川 寛

論 文 内 容 の 要 旨

[目 的]

ヒト膵臓から分泌される代表的な消化酵素前駆体であるトリプシノーゲンは、ヒト膵液中に 3 種のアイソザイムの存在が知られ、各アイソザイムは等電点やインヒビターによる阻害度で区別されている。トリプシン・アイソザイムは近年、膵疾患の診断に応用されるようになり、例えば、主要な 1 型と 2 型の比が慢性アルコール性膵障害の膵液にて逆に変化することが報告されている。これらアイソザイムの一次構造、遺伝子の構造とその発現調節機構を明らかにすることは、トリプシンに関する医学研究を進める上で重要な手がかりになると思われる。本研究は、この目的にそってヒト膵臓のトリプシノーゲン I および II cDNA をクローニングし、その一次構造を決定し、さらにトリプシノーゲン遺伝子のゲノム上の構成を検討したものである。

[方法ならびに結果]

ヒト膵臓 mRNA より cDNA ライブラリーを作成し、ショ糖密度勾配遠心にて部分精製したトリプシノーゲン mRNA をプローブとして選別した。陽性クローンを hybrid arrested translation にて確認し、制限酵素地図の異なる 2 種のトリプシノーゲン cDNA (TRY I と TRY II) と得、その全塩基配列を決定した。TRY I cDNA は 741 塩基の翻訳領域、6 塩基の 5' 非翻訳領域、53 塩基の 3' 非翻訳領域からなり、TRY II cDNA は 3' 非翻訳領域のみ 2 塩基長かった。TRY I, II cDNA 間で 62 塩基、26 アミノ酸の相違が見られ、アミノ酸配列で 90% の相同性を示した。

TRY I, II cDNA はどちらも 247 アミノ酸のトリプシノーゲン前駆体をコードし、推定される分子量は TRY I が 25002, TRY II が 24930 ダルトンであった。両前駆体は N 末端から 15 アミノ酸のシ

グナルペプチド, 8アミノ酸のアクティベーションペプチド, そしてC末端に224アミノ酸のトリプシンと並ぶ構造をとっていた。得られたトリプシノーゲンの一次構造をウシ, ラットと比較したところ, 75~82%の相同性を示し, アクティベーションペプチドや活性中心の近傍は特に高い相同性を示した。TRY I, II cDNAの膵臓全cDNA中のpopulation (11%と4%), アミノ酸配列より推定される等電点(4.4と7.0), アミノ酸組成を, Guyらがヒト膵液より精製したトリプシノーゲン1, 2アイソザイムの性質と比較したところ前者は後者とほぼ一致し, TRY I, II cDNAは両アイソザイムをコードするものと考えられた。また, 両トリプシノーゲンmRNAの大きさはNorthern法により約900塩基であり, 両者はほぼ同一の大きさを持つと推定された。

ヒト・ゲノム中のトリプシノーゲン遺伝子の構成を調べるため, TRY I, II cDNAをプローブとしてSouthern法を行い, ヒト・ゲノム中にトリプシノーゲン遺伝子が少なくとも10個存在することが分かった。また, セルソーターを用いた染色体分画法とマウス・ヒト雑種細胞を用いたSouthern法により, これらトリプシノーゲン遺伝子群が第7染色体上に存在することが明らかとなった。

[総括]

ヒト膵臓mRNAよりトリプシノーゲンcDNAを単離し, 2種の主要なトリプシン・アイソザイム前駆体の全一次構造を決定した。両アイソザイム前駆体は247アミノ酸からなり, 両者間で26アミノ酸の相違を持つ異なるポリペプチドであり, N末端に15アミノ酸のシグナルペプチド, 8アミノ酸のアクティベーションペプチドの存在を認めた。ヒト・ゲノムDNAをSouthern法により解析し, ヒト・トリプシノーゲン遺伝子が少なくとも10個の遺伝子群からなるmultigene familyを構成し, 第7染色体上に存在することが示された。

論文の審査結果の要旨

本研究は, ヒト膵臓mRNAよりcDNAライブラリーを作成し, 2種のヒト膵臓トリプシノーゲン前駆体の全一次構造を決定したものである。さらにヒト・ゲノムDNAをSouthern法にて解析し, ヒト・トリプシノーゲン遺伝子が少なくとも10個の遺伝子群からなるmultigene familyを構成し, 第7染色体上に存在することを示した。

これらはトリプシン・アイソザイムの遺伝子構造およびその発現調節機構を明らかにする上で極めて有意義な研究であり, 学位に値するものと認める。