



Title	ヒト血管型平滑筋アクチン遺伝子の5' 上流域の解析
Author(s)	中野, 芳朗
Citation	大阪大学, 1988, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/36025
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、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【13】

氏名・(本籍)	中野芳朗
学位の種類	医学博士
学位記番号	第8090号
学位授与の日付	昭和63年3月25日
学位授与の要件	医学研究科生理系専攻 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	ヒト血管型平滑筋アクチン遺伝子の5'上流域の解析
論文審査委員	(主査)教授角永武夫 (副査)教授松原謙一 教授中田篤男

論文内容の要旨

[目的]

近年、動脈硬化症において血管平滑筋細胞が重要な役割を果している事がわかってきている。血管型平滑筋アクチンは血管平滑筋細胞で特異的に見い出され、細胞の収縮や運動性に最も深く関与する蛋白質である。従って、血管平滑筋の運動性の変化や細胞増殖性の変化に血管平滑筋アクチン遺伝子の発現の変化が関与していると考えられるが、この遺伝子の構造と機能、特にその発現の調節機構は不明であった。そこで血管型平滑筋アクチン遺伝子の分離を行い、血管型平滑筋アクチン遺伝子の発現に最も重要な役割を果していると考えられる5'上流域の構造決定、並びに発現に重要な働きをする領域の同定を行った。

[方法ならびに成績]

単離したヒト血管型平滑筋アクチン遺伝子のinitiation codonから上流約7kbをダイオキシ法により塩基配列を決定した。同時に上流の種々のFragmentをpSVO CAT vectorに挿入し、chloramphenicol acetyl transpherase(CAT)活性を示標としてpromoter領域を同定した。その結果initiation codonの上流3.8kbにニワトリの血管型平滑筋アクチン遺伝子promoterおよび非翻訳領域と相同性の高い部位が存在し、この部位を含むfragmentはpromoter活性を示す事がわかった。initiation codonを含むcoding exonの一部を用いてprimer extension法を行い42(+2)bpから成る非翻訳領域を同定した。

プロモーター及び非翻訳領域は250bpにわたってニワトリの血管型平滑筋アクチン遺伝子と80%の相同意義があった。-50~-45及び-178~-167にはlysozymeの遺伝子で報告されているサイレンサー様

配列 G G A G G A G A A A T G C A G T G G A A が存在し, -72~-63, -120~-111 には, 心筋アクチン遺伝子の発現に大きな影響を及ぼす CArG-box が 2 個存在した。また, -182~-175, -172~-164 には, SV40 のエンハンサー様の配列 G T G G A A T G が存在した。この領域から上流約 1 kb は種々の細胞において promoter 活性を示した。そこでこの遺伝子の発現に必須の領域を決定するために, 5' 上流からの欠失組み換え体を作製し, 種々の培養細胞にリン酸カルシウム法を用いて導入し, 48 時間後の細胞抽出液中の CAT 活性測定により発現制御領域をしらべた。その結果, いずれの細胞においても -122 まで欠失すると最も強い活性を示すが, 更に -40 まで欠失するとその活性がなくなる事がわかった。この領域は, 2 つの CArG box を含んでおり CArG box が発現に重要な役割をしている事が示唆された。また -122 より上流域は発現に抑制的に働く事も示唆された。

プロモーター領域の外に第一イントロン内の 110bp の長さの領域 (1035~1145) には, ニワトリの血管型平滑筋アクチン遺伝子と 77% の homology が存在し, CArG box およびポリオーマウィルスのエンハンサーに類似した配列 (A G G A A A T G C) が並んで存在し, パリンドローム構造を形成していた。この部位を含む 180bp を, SV40 のエンハンサーを欠きプロモーター活性のみをもった pA10 CAT vector の上流及び下流に組み込むと, エンハンサー活性が種々の細胞で見い出された。

〔総括〕

ヒト血管平滑筋アクチン遺伝子には coding exon の上流 3.8kb に他のアクチニアソフォームと同様に非翻訳 exon が存在した。これで 6 種のアクチニアソフォームの全ての遺伝子に共通して非翻訳 exon が存在することが判明した。その上流のプロモーター領域および第一イントロンの一部の領域は種を超えて保存されており, それぞれ遺伝子発現に関与すると思われる配列を含んでいた。

非翻訳領域の上流 1 kb 断片は, 種々の細胞でプロモーター活性を示し, 上流 120bp まで欠失すると最も強いプロモーター活性を示した。この領域内には 2 つの CArG box が存在し, 更にこの 2 つの CArG box を除くと活性が急に低下する事からこの 2 つの CArG box がこの遺伝子の発現に重要な役割をしている事, また 120bp より上流域には発現に抑制的に働く配列が存在する事が示唆された。第一イントロン内の種を超えて保存されている領域は種々の細胞でエンハンサー活性を示した。

以上, プロモーター領域および第一イントロン内には血管型平滑筋アクチン遺伝子の基本的な発現調節に関与するいくつかの配列が存在し, 遺伝子の発現は複数の因子により調節されていることが示唆された。

論文の審査結果の要旨

本研究はヒト血管型平滑筋アクチン遺伝子の発現制御領域を検索したものである。その結果, 他のアクチニアソフォームと同様に非翻訳第一エクソンが存在する事, 種を超えて保存されたプロモーター領域及び第一イントロン内の領域に発現を促進する領域及び発現を抑制する領域がある事を示した。

この成果は, 今後平滑筋細胞における遺伝子発現を調べるうえで貴重な情報を提供するものであり,

学位に値すると考えられる。