

Title	Primary structure of human pancreatic $\alpha$ -amylase gene : its comparison with human salivary $\alpha$ -amylase gene
Author(s)	Horii, Akira
Citation	
Issue Date	
oaire:version	VoR
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/36665">https://hdl.handle.net/11094/36665</a>
rights	
Note	

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

Osaka University

氏名・(本籍)	ほり 堀	い 井	あきら 明
学位の種類	医	学	博 士
学位記番号	第	8 4 7 5	号
学位授与の日付	平成元年3月2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	ヒト膵臓型 $\alpha$ -アミラーゼ遺伝子の一次構造：ヒト唾液腺型 $\alpha$ -アミラーゼ遺伝子との比較		
論文審査委員	(主査) 教授 森 武貞		
	(副査) 教授 吉川 寛 教授 松原 謙一		

## 論文内容の要旨

### 〔目 的〕

ヒト $\alpha$ -アミラーゼは代表的な消化酵素の一つであり、膵臓型、唾液腺型の2種のアリソザイムが存在する。これらアリソザイムの遺伝子は異なり、その発現は組織特異的である。術後の高アミラーゼ血症やアミラーゼ産生腫瘍（肺癌、卵巣癌等）では、蛋白レベルでの唾液腺型アリソザイムの産生が報告されてきた。しかし、アミラーゼ遺伝子の発現調節機構については全く知られていない。本研究は、それを明らかにする目的でアミラーゼ遺伝子の構造解析を行った。

### 〔方法ならびに成績〕

正常ヒト白血球より作成したコスミドライブラリー12万個よりヒト $\alpha$ -アミラーゼcDNAをプローブとしてスクリーニングを行い、アミラーゼ遺伝子全長を持つと考えられるクローン9個を得た。うち8個は既に報告されている唾液腺型遺伝子と同一の制限酵素地図を示したが、cos P2と命名したクローンはこれと異なり、そのエクソンに相当する領域の塩基配列を調べたところ、膵臓型 $\alpha$ -アミラーゼ遺伝子cDNAと完全に一致し、その遺伝子の全長は約9 kbであった。最上流エクソンの塩基配列をもとに合成プライマーを作成し、プライマー伸長法でmRNAへの転写開始点を決定したところ、5'非翻訳領域が14塩基であることが判明した。5'近傍領域の塩基配列から、TATA boxが転写開始点の29~23塩基上流に存在すること、ならびにCAAT boxが存在しないことも明らかになった。

ヒト膵臓型 $\alpha$ -アミラーゼ遺伝子を唾液腺型遺伝子と比較してみると、両者の制限酵素地図およびエクソンの位置は非常に高い相同性を示したが、膵臓型遺伝子が10個のエクソンより成るのに対し、唾液腺型遺伝子では最上流に非翻訳エクソンが1個多い構造であった。また、両者の塩基配列の比較からエクソン部

分では98%, 5'近傍領域で93%, インترون部分でも塩基配列を決定した範囲内では90%以上という極めて高い相同性を示し, 両者は共通の祖先となる遺伝子より分化したものであることが強く示唆された。

次に, マウスの $\alpha$ -アミラーゼ遺伝子とヒトの2種の $\alpha$ -アミラーゼ遺伝子の比較を行った。マウスでもヒト同様, 膵臓型遺伝子は10個のエクソンより成り, 唾液腺型ではさらに5'に非翻訳エクソンが存在する。基本構造を成す10個のエクソンの位置(イントロン長で決定される)をこれら4種のアミラーゼ遺伝子間で比較してみると, 4者は基本的に類似していたが, 中でもヒトの2種の遺伝子はほぼ同一であった。マウス, ヒトにおいて, 唾液腺型遺伝子の5'非翻訳エクソンの比較をすると, 位置, 塩基配列ともに全く異なっていた。マウスの唾液腺型遺伝子は5'非翻訳エクソンのみが異なるようなスプライスの違うmRNAが肝臓でも発現している。この5'非翻訳エクソンもヒト唾液腺型遺伝子のそれとは全く異なっていたが, 2種の動物において, 進化の過程で膵臓以外で発現するために5'非翻訳エクソンを1つ多く獲得していった可能性が示唆された。次に, エクソン部分の塩基配列の相同性を比較してみると, ヒトの2種のアミラーゼ遺伝子間では98%, マウスでは89%の相同性を示したが, ヒト-マウス間では膵臓型で85%, 唾液腺型で81%となり, 同一動物内での異種遺伝子間の方が異なる動物間での同一遺伝子間の相同性より高い結果となった。ヒト, マウスとも膵臓型, 唾液腺型の2種のアイソザイムをもつことから, 2種の遺伝子への分化はヒト-マウスへの分化より以前におこったと考えるのが妥当であろうが, 遺伝子構造, 塩基配列の比較からは, 進化の過程において2種のアミラーゼへの分化はヒト-マウスへの分化以降におこったと考えられた。

#### [総括]

ヒト膵臓型 $\alpha$ -アミラーゼ遺伝子の全一次構造を決定した。この遺伝子は全長約9 kbで, 10個のエクソンから構成されていた。

ヒト膵臓型 $\alpha$ -アミラーゼ遺伝子は, 唾液腺型遺伝子と比較すると, 唾液腺型遺伝子で5'非翻訳エクソンが1個多い他は極めて高い相同性を示した。

ヒトの2種のアミラーゼ遺伝子とマウスの2種のアミラーゼ遺伝子の比較から, 進化の過程において, 2種のアミラーゼ遺伝子へ分化したのはヒト-マウスへの分化以降であることが示唆された。

### 論文の審査結果の要旨

本論文は, ヒト膵臓型アミラーゼ遺伝子の構造を明らかにし, さらに, その構造をヒト唾液腺型アミラーゼ遺伝子およびマウス膵臓型, 唾液腺型アミラーゼ遺伝子と比較したものである。アミラーゼ遺伝子の臓器特異的発現調節機構を解明する上で重要な知見を得たもので, 学位論文として価値あるものと認める。