



Title	ヒトホスホグリセレートムターゼ骨格筋特異型サブユニット遺伝子の構造
Author(s)	辻野, 精一
Citation	大阪大学, 1989, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/36771
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">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed >大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏名・(本籍)	辻 野 精 一
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 8820 号
学位授与の日付	平成元年 8 月 12 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	ヒトホスホグリセレートムターゼ骨格筋特異型サブユニット遺伝子の構造
論文審査委員	(主査) 教授 岸本 進 (副査) 教授 吉川 寛 教授 垂井清一郎

論文内容の要旨

(目 的)

解糖系酵素ホスホグリセレートムターゼ (PGAM) には骨格筋に特異的に発現する M 型 PGAM とその他の組織で発現する B 型 PGAM の二つのサブユニットがあり、二量体となることにより活性を有する三種のアイソザイム (MM, MB, BB) を形成する。現在までに三例報告された M 型 PGAM 欠損症の分子レベルでの解明と、筋特異的発現の調節機構の検索を目的として、M 型 PGAM 遺伝子をクローニングしその構造を決定し、5' 側近接領域を他の特異的酵素遺伝子のそれと比較した。

(方 法)

EcoRI で切断したヒトゲノム DNA を M 型 PGAM の cDNA をプローブとしてサザンブロット解析すると強くハイブリダイズする二本のバンドを認める。正常者リンパ球より抽出した DNA を同様に切断しそれら二本のバンドの長さに一致する断片をそれぞれ抽出し、バクテリオファージ λ gt10 を用いてエンリッチライブラリーを二種類作製した。これを in situ プラークハイブリダイゼーション法によりスクリーニングし陽性のプラークを選択し、それから抽出した DNA よりインサートを切り出し、pUC19 にサブクローニングした。制限酵素マッピングとサザンブロッック解析により cDNA とこれらのクローンの相互的位置関係を調べ、適当な制限酵素で切断した断片をさらに M13mp9 (NcoI 切断部位を作成した)、M13mp18、M13mp19 にサブクローニングし dideoxy 法により構造を決定した。

(成 績)

1) ヒト M 型 PGAM 遺伝子の構造

二種類のエンリッチゲノムライブラリーより、それぞれ λ PGAMM4.11 (4.3kb) と λ PGAMM

5.11 (2.8kb) のクローンを得た。塩基配列を決定し、cDN 比較することにより、 λ PGAMM4.11と λ PGAMM5.11はM型PGAM遺伝子のそれぞれ5'側と3'側を占め、全長を含むことが判明した。ヒトM型PGAM遺伝子は全長約2.86kbに及び456,181,203bpの三つのエクソンと103, 約1920bpの二つのイントロンにより構成されている。イントロンの両端部分の塩基配列はすべてGT/AG規則に一致した。ヒトM型PGAM遺伝子のエクソン/イントロン構造はヒト2, 3-ビスホスホグリセレートムターゼ(BPGM)のそれに似ている。すなわちどちらも三つのエクソンと二つのイントロンから成り、第二イントロンの位置は全く同じである。この類似はM型PGAMとBPGMが共通の祖先遺伝子に由来するという推定を支持する。しかし第一イントロンの位置がM型PGAMは翻訳領域内にBPGMは5'側非翻訳領域内にある点とどちらのイントロンもBPGMの方が遙かに長い点は異なる。ヒトM型PGAM遺伝子の第二イントロンはBPGM遺伝子と分岐する前に生じたと推察される。しかし第一イントロンはBPAM遺伝子との分岐後になんらかの機序で挿入されたのかも知れない。

2) ヒトM型PGAM遺伝子の5'側近接領域の解析

ヒトM型PGAM遺伝子の転写開始部位から上流920bpの塩基配列を決定した。典型的“TATA box”(TATAAA)と逆転した“CCAAT box”(ATTGG)をいずれも通常的位置に認めた。ヒトM型PGAM遺伝子の5'側近接領域はGCに富むが、コンセンサスSplコア配列(GGGCGGあるいはCCGCC)は認められなかった。ヒトアルドラーゼ遺伝子では初めの四つのエクソンはすべて5'側非翻訳領域にあり、組織特異的なスプライシングにより4種類のmRNAが生じ、骨格筋では第三のエクソンが選択されるが、そのすぐ上流に固有の“TATA box”(TATAA)と、不完全ではあるが“CCAAT box”と思われる配列(CAT)が存在する。その二つの転写調節配列の間の塩基配列はヒトM型PGAM遺伝子の同じ部位の塩基配列と相同性が高い。さらにヒト筋型クレアチンキナーゼ(CK-M)遺伝子上流にもそれと似た配列があり、しかもこの部位はマウスやラットの同酵素遺伝子においても保存されている。これらの相同な領域におけるコア配列は“GGGGCTGGG”と思われる。この配列はヒトM型PGAM遺伝子では-44から-36にある以外に、その逆転した配列(5'-CCCAGCCCC-3')が-120から-112に認められる。また、マウスの骨格筋に特異的である乳酸脱水素酵素A(LDH-A)遺伝子やヒトグリセロアルデヒド-3-リン酸脱水素酵素遺伝子にも存在する。

(総括)

M型PGAMのゲノムDNAをクローニングし、その構造と5'側近接領域を解析した。“GGGGCTGGG”配列が筋酵素遺伝子の組織特異的発現と関係している可能性を初めて示唆した。

論文の審査結果の要旨

本研究はヒトの解糖系酵素であるホスホグリセレートムターゼの骨格筋特異型サブユニットの遺伝子をクローニングし構造を決定したものである。欠損症患者における遺伝子レベルでの異常の解明や、遺伝子の骨格筋特異的発現機構の研究などに寄与するところが大い。