



Title	Structure of the entire human muscle phosphofructokinase-encoding gene : a two promoter system
Author(s)	山崎, 知行
Citation	大阪大学, 1991, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/37194
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、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)	山崎知行
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 9697 号
学位授与の日付	平成3年3月26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	Structure of the entire human muscle phosphofructokinase-encoding gene: a two promoter system (ヒト筋ホスホフルクトキナーゼ遺伝子の全構造とその発現機構)
論文審査委員	(主査) 教授 垂井清一郎 (副査) 教授 田中 武彦 教授 吉川 寛

論文内容の要旨

(目的)

ホスホフルクトキナーゼ(PFK)は解糖系の律速酵素である。当教室では正常ヒト筋PKのcDNAクローニングを行い、同酵素の一次構造を明らかにすると共に、本酵素の先天的な欠損症であるグリコーゲン病VII型患者の筋PKのcDNAをクローニングしその構造異常を同定した。また、最近本症患者の遺伝子異常も解明しているが、基本となるのは、正常ヒト筋PK遺伝子である。本研究では、筋解糖系における筋PKの役割を分子生物学的に明らかにすることを目的として、同酵素の遺伝子クローニングを行い、その発現調節機構を分析した。

(方法ならびに成績)

正常ヒト遺伝子ライブラリーより、正常ヒト筋PKcDNAをプローブに用いて複数の遺伝子クローニングを単離した。サザン分析及び制限酵素地図の作成によりこれらのうちλPKMG1およびλPKMG16は互いに約0.8kbのオーバーラップを有し2つのクローニングで正常ヒト筋PK遺伝子の全長を含んでいるものと考えられた。これにより以下の成績が得られた。
①ヒト筋PK遺伝子は、約30kbの範囲に24のエクソンをコードしていた。
②ヒト筋PKのmRNAに5'非翻訳領域の異なるA, B, Cの3つのタイプが存在すること、骨格筋中では、3タイプとも発現しているが、A, B両タイプ特にBタイプが優位であることを示した。
③第1エクソンはCタイプに特異的な5'非翻訳領域をコードしており、一方第2エクソンはA, B両タイプに共通な配列をコードしていた。開始コドンは、第3エクソンによって、また終止コドンとポリA付加シグナルは、第24エクソンによってコードされていた。
④第2イントロンが、alternative splicingによりスプライスされる場合はAタイプ、スプライスされずに

mRNAに残る場合はBタイプとなる。⑤各エクソン、イントロン境界部はすべての部分でG T - A Gルールを含むコンセンサス配列が保存されていた。ただし第1エクソンのドナーサイトは、GCより始まっていたが、このような例は、既に複数の遺伝子で報告されている。⑥S Iマッピング法、プライマー伸長法を用いて本遺伝子の転写開始点を分析したところ、転写は第1エクソン、第2エクソンよりそれぞれ独立して行われていることが示された。⑦プロモーター配列に関して、第1エクソンの上流には2カ所のSp1結合配列が認められた。また、第2エクソンの上流域には、CAATボックス様及びTATAボックス様の配列が存在した。大腸菌クロラムフェニコールアセチル化酵素(CAT)遺伝子を用いたレポーターアッセイによると、第1エクソン上流のプロモーターに比べ、第2エクソン上流のプロモーターは筋細胞により特異的に働くと考えられた。⑧第2エクソン上流には、筋特異的発現が関わるエンハンサーとして報告されているM-CAT様配列が2カ所認められた。

(総括)

- (1) 正常ヒト筋PFK遺伝子のクローニングを行った。
- (2) 同遺伝子は、全長約30kbにおよび24のエクソンから構成されていた。
- (3) 同遺伝子には、少なくとも2つの独立したプロモーターが存在する。第1のプロモーターは、第1エクソンより、また第2のプロモーターは、第2エクソンよりの転写開始をそれぞれ支配していた。第1エクソンより転写が行われた場合は、CタイプのmRNAが產生されるのに対して、第2エクソンからの転写物は、第2イントロンのalternative splicingによりAタイプ、Bタイプとなり、第2エクソンからの転写が筋細胞特異性を有することが明かとなった。

論文審査の結果の要旨

本研究は、ヒトのホスホフルクトキナーゼ(PFK)筋型アイソザイムの全遺伝子構造とその発現機構をはじめて明らかにしたものである。本研究により、ヒト筋PFK遺伝子は2個のプロモーターと24個のエクソンになることが示された。また、単一のヒト筋PFK遺伝子より、3種のmRNA種が発現する機序、および筋PFKの筋組織特異的な発現の機序が明らかとなった。これらの結果は、筋組織特異的な遺伝子発現機構、および解糖系律速酵素の活性制御機構の解析に関しても大きな意義を有するものである。さらに、同酵素の先天的な欠損症であるグリコーゲン病VII型の遺伝子レベルでの病因解析に際して、全構造の解明は非常に有用であると考えられる。これらの点に鑑み、本研究は学位を授与するにふさわしいものであると判断した。