



Title	Cloning and characterization of a third type of human α -amylase gene, AMY2B
Author(s)	横内, 秀起
Citation	大阪大学, 1991, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/37435
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)	よこ	うち	ひで	おき
	横	内	秀	起
学位の種類	医	学	博	士
学位記番号	第	9 5 7 8	号	
学位授与の日付	平成 3 年 3 月 5 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	Cloning and characterization of a third type of human α - amylase gene, <i>AMY2B</i> (第三のタイプのヒトアミラーゼ遺伝子 <i>AMY2B</i> の単離及び 構造解析)			
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)

ヒトアミラーゼには唾液腺型と膵臓型のアイソザイムがあり、それぞれ、非常に似かよってはいるが異なった遺伝子 *AMY1*, *AMY2* にコードされ臓器特異的に発現されている。さらにヒトゲノムにはこの二種類のアミラーゼ遺伝子以外にもう一つのアミラーゼ遺伝子 *AMY2B* が存在することが示され、この遺伝子に由来すると思われる cDNA がヒト肺カルチノイド組織より単離されていたが、この第三のアミラーゼ遺伝子の全長にわたる解析は行われていなかった。そこでこの遺伝子を単離、解析し他の二つのアミラーゼ遺伝子と比較するとともにその臓器特異的発現のメカニズムを理解する目的で本研究を行った。

(方法ならびに成績)

平均40キロ塩基対 (kb) のインサートを持つコスミド約130万個より成る正常ヒトゲノムライブラリーを出発材料とし、全てのアミラーゼ遺伝子に共通な配列を持つDNA断片と第三のアミラーゼ遺伝子に特異的なDNA断片の二つのプローブでスクリーニングを行い、両方のプローブでともに陽性な2個のクローンを得た。この2個のクローンについて、制限酵素地図を作成した後、肺カルチノイドより単離されたアミラーゼ cDNA をプローブに用いて Southern blot 解析を行い、この2個のクローンによって全長をカバーされる第三のアミラーゼ遺伝子の全エキソンの配置を決定、さらに、各エキソンの塩基配列を dideoxy 法により決定した。

その結果、この第三のアミラーゼ遺伝子はアミノ酸をコードする10個の翻訳エキソンに加えて2個の非翻訳エキソンより成る全長約25kbの遺伝子であることが判明した。またこの12個のエキソン部分の塩基配列は解析に用いた肺カルチノイドのアミラーゼ cDNA のそれと完全に一致しており、この第三

のアミラーゼ遺伝子が実際に肺カルチノイドで発現していたことが示された。

唾液腺型 (AMY1)、膵臓型 (AMY2) 及びこの第三型 (AMY2B) の三種のアミラーゼ遺伝子の構造を比較すると、10個の翻訳エクソンを含む領域では、エクソン部分の塩基配列で98%前後の相同性を示すのみならず、AMY2Bの第四イントロンに約0.5kbの欠失がある以外はエクソン、イントロンの長さも同じで制限酵素地図もよく似ており三者間で高い相同性が保持されていた。

一方、第一翻訳エクソンより上流のいわゆるコントロール領域では三種の遺伝子の間には進化の過程における多段階の遺伝子挿入と欠失の結果と考えられる大きな構造上の違いがみられた。すなわちAMY1及びAMY2では第一翻訳エクソンの上流にガンマアクチンの偽遺伝子が挿入されているがいずれもさらに挿入されたレトロウイルス遺伝子 (AMY1とAMY2ではその長さが異なる) により中断され、3'側の一部分のみが残っているのに対して、AMY2Bではアクチン偽遺伝子の全長が挿入されレトロウイルス遺伝子は含まれていなかった。AMY1は唾液腺で、AMY2は膵臓でそれぞれ臓器特異的に発現し、AMY2Bは膵臓でAMY2と同程度発現しているが肝臓や肺カルチノイドなどの他臓器でもわずかながら発現している。この遺伝子発現様式の違いは、上記のコントロール領域の構造変化によるものと思われる。

(総括)

- (1) 従来より知られていた唾液腺型、膵臓型のアミラーゼ遺伝子以外の第三のアミラーゼ遺伝子を単離し、構造解析を行い、前二者のアミラーゼ遺伝子と比較した。
- (2) この遺伝子はアミノ酸をコードする10個の翻訳エクソンに加えて2個の非翻訳エクソンより成る全長約25kbの遺伝子であった。
- (3) 10個の翻訳エクソンを含む領域では三種のアミラーゼ遺伝子の間には高い相同性が認められたのに対し、第一翻訳エクソンより上流のいわゆるコントロール領域では三種の遺伝子の間には多段階の遺伝子挿入と欠失の結果と考えられる大きな構造上の違いがみられ、それが三種の遺伝子の臓器特異的な発現を規定しているものと推測される。

論文審査の結果の要旨

本論文は、従来より知られている唾液腺型と膵臓型以外の第三のタイプの人アミラーゼ遺伝子を単離、解析し、その構造を他の二種類のアミラーゼ遺伝子と比較したものである。

その結果、この遺伝子が肺カルチノイド腫瘍組織において、他の二種類のアミラーゼ遺伝子のプロモーターとは全く異なった、さらに上流に存在するプロモーターを用いて発現されていることを示すとともに、三種のアミラーゼ遺伝子のコントロール領域には、進化の過程における多段階の遺伝子挿入と欠失の結果と考えられる構造変化があることを示した。

以上の結果は、アミラーゼ遺伝子の組織及び腫瘍特異的発現機構の解明に大きな意義を持つとともに、遺伝子ファミリー全般の進化を考える上でも重要な知見と言える。従って、本論文は学位授与に値するものと認める。