

Title	Primary structure of human salivary α -amylase gene
Author(s)	西出, 孝啓
Citation	
Issue Date	
oaire:version	
URL	https://hdl.handle.net/11094/38465
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 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名	にし 西 で 出 たか 孝 ひろ 啓
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学位記番号	第 1 1 1 1 0 号
学位授与年月日	平成 6 年 2 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当
学位論文名	Primary structure of human salivary α -amylase gene (ヒト唾液線型 α -アミラーゼ遺伝子の一次構造)
論文審査委員	(主査) 教授 森 武貞 (副査) 教授 松原 謙一 教授 谷口 直之

論 文 内 容 の 要 旨

<目 的>

α -アミラーゼ (E.C.3.2.1.1) は、代表的な消化酵素の一つであり、ヒトでは唾液腺型、膵臓型の 2 種のアイソザイムの存在が知られている。これらアイソザイムをコードする遺伝子は異なり、その発現は組織特異的であると考えられているが、その機構に関しては不明である。一方、手術後あるいはある種の担癌患者において高アミラーゼ血症がみられ、その場合、蛋白レベルでは唾液腺型アイソザイムの産生が示唆されている。本研究では、生理的なあるいは種々の病態における α -アミラーゼ遺伝子の発現調節機構を明らかにする目的で、ヒト唾液腺型 α -アミラーゼ遺伝子の単離及びその一次構造の解析を行なった。

<方法ならびに成績>

(1) 正常ヒトゲノムライブラリーのスクリーニング

ヒト唾液腺型 α -アミラーゼ cDNA フルサイズをプローブにして、ラムダファージにクローニングされた正常ヒトゲノムライブラリー(約30万個)をスクリーニングして、11個の陽性クローンを単離した。さらにその中から、ヒト唾液腺型 α -アミラーゼ cDNA に特異的な 5' 非翻訳領域の短いプローブでも陽性となる 1 個のクローンを選択した。このクローンは、ヒト唾液腺型 α -アミラーゼ cDNA の 3' 端の短いプローブでも陽性になることより、ヒト唾液腺型 α -アミラーゼ遺伝子の全長をカバーするものと考えられた。次に得られたヒト唾液腺型 α -アミラーゼ遺伝子と cDNA の Heteroduplex analysis を行なった結果、ヒト唾液腺型 α -アミラーゼ遺伝子のエクソンは、少なくとも 9 個は存在すると推察された。

(2) 制限酵素地図作成と塩基配列決定

単離したヒト唾液腺型 α -アミラーゼ遺伝子を 14 種類の制限酵素を用いて制限酵素地図を作成した。さらにこの遺伝子を 7 個の断片に分けて pBR322 にサブクローニングを行ない、全エクソンの塩基配列を決定した。決定された塩基配列はヒト唾液腺型 α -アミラーゼ cDNA のものと全く一致しており、11 個のエクソンにより構成されていることが明らかになった。また遺伝子の全長は約 10kb で、11 個の各々エクソンの長さは 100~231bp、10 個のイ

ントロンは94~2400bpの長さであった。さらに20ヶ所のスプライスジャンクションは全てGT-AGルールが守られていた。また、マウス唾液腺型 α -アミラーゼ遺伝子と比較すると、エクソンの数は同じ11個であり、マウスで明らかにされている3ヶ所のスプライスジャンクションもヒトと一致していたが、イントロンの長さには違いがみられた。

(3) 転写開始点の決定

S1マッピング及びプライマー伸長法により転写開始点の解析を行ない、ヒト唾液腺型 α -アミラーゼ遺伝子の転写開始点は開始コドンより215bp上流に存在することを明らかにした。また、5'近傍領域には、Goldberg-Hogness box及びCAT boxに相当すると思われる領域が存在した。特に、CAT box周辺の塩基配列は、マウス唾液腺型 α -アミラーゼ遺伝子との間で高い相同性を示すことより、組織特異的発現に関与する制御領域である可能性も考えられた。

<総括>

ヒト唾液腺型 α -アミラーゼ cDNA をプローブに用いてヒトゲノムライブラリーのスクリーニングを行ない、ヒト唾液腺型 α -アミラーゼ遺伝子を単離した。遺伝子は全長約10kbで、11個のエクソンと10個のイントロンにより構成され、転写開始点は開始コドンより215bp上流に存在することを明らかにした。また、5'近傍領域には、マウス唾液腺型 α -アミラーゼ遺伝子との間で部分的によく保存された領域が存在し、組織特異的発現に関与する制御領域である可能性も示唆された。

論文審査の結果の要旨

本論文は、ヒト遺伝子ライブラリーより単離したヒト唾液腺型 α -アミラーゼ遺伝子の一次構造を明らかにし、その構造をマウス α -アミラーゼ遺伝子と比較したものである。

その結果、この遺伝子は全長約10kbで、11個のエクソンと、介在する10個のイントロンにより構成されることを明らかにするとともに、mRNAへの転写開始点を決定し、5'非翻訳領域が215bpであることを示した。さらに、マウス α -アミラーゼ遺伝子との比較により、5'近傍領域において組織特異的発現調節に関与すると考えられる領域を示した。

ヒト α -アミラーゼ遺伝子の組織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。