



Title	Isolation and Characterization of Ampd3 Encoding Heart-Type Isoform of AMP Deaminase
Author(s)	Sermsuvitayawong, Kannika
Citation	大阪大学, 1997, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/39953">https://hdl.handle.net/11094/39953</a>
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</a> 大阪大学の博士論文について

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

氏 名	サエムスウイタヤウォンカニカ
博士の専攻分野の名称	博士(理学)
学 位 記 番 号	第 12959 号
学 位 授 与 年 月 日	平成9年3月25日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第1項該当 理学研究科生理学専攻
学 位 論 文 名	Isolation and Characterization of <i>Ampd3</i> Encoding Heart-Type Isoform of AMP Deaminase (AMP デアミナーゼ心筋型アイソザイム: 遺伝子の単離と解析)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教授 松原 謙一  (副査) 教授 近藤 寿人 国立循環器病センターバイオサイエンス部長 向井 常博

## 論文内容の要旨

AMPデアミナーゼ(AMPD)はAMPをIMPに脱アミノ化する酵素で、ATPの維持やアデノシンの調節に関わり、筋肉などエネルギー要求性の高い細胞において重要な役割を果たす。高等脊椎動物ではAMPDのアイソザイム(骨格筋型、肝型、ヒト赤血球型、げっ歯類心筋型)が存在することが知られ、各アイソザイムが別の遺伝子(AMPD遺伝子群)にコードされることが明らかとなってきた。このうち第3のアイソザイムとして知られているのはげっ歯類では心筋型、ヒトでは赤血球型だがこの2つは性質が違うと報告されている。赤血球型をコードするヒトAMPD3遺伝子は単離されていたが、げっ歯類の心筋型をコードする遺伝子は単離されておらず、心筋におけるAMPDの役割の検討も不十分である。そこで、げっ歯類のAMPDの心筋型をコードする遺伝子を単離同定しAMPDの役割をより明らかにする目的で、マウス*Ampd*遺伝子の解析を行った。

RT-PCR法ならびにDNAライブラリーを用いて、マウス心筋に発現する全長4.1kbの*Ampd*遺伝子cDNAを単離した。このcDNAは766アミノ酸からなるペプチドをコードし、ヒトAMPD3との間でアミノ酸レベルで94%のホモロジーが観察された。また、RT-PCR法により他のマウス*Ampd*cDNAも単離し、マウス・ヒトの各AMPDcDNAを比較したところ、心筋より単離されたcDNAはヒトAMPD3に最も相同性が高く、マウス*Ampd3*と名付けた。また、大腸菌発現系にて、*Ampd3*がコードするペプチドにはAMPD活性があり、免疫学的に心筋型アイソザイムと同定された。さらに、FISH法ならびに戻し交雑法により*Ampd3*遺伝子はマウス第7番染色体上にマップされた。それはヒトAMPD3遺伝子がマップされているヒト第11番染色体上の領域と相同的な領域であった。ゲノムDNAの構造解析にて、マウス*Ampd3*遺伝子のエキソン・イントロン境界はヒトAMPD3遺伝子と一致したが、非翻訳領域のみを含む第1エキソンやその上流には相同性が見られなかった。また、RNAの解析により、マウス*Ampd3*は心筋・腎に高く発現し、ヒトAMPD3とはやや異なっていた。マウス遺伝子もヒト遺伝子と同様に第1エキソンの選択的スプライシングを認めたが、マウス第1Aエキソンの選択は心・腎で見られるが、脾ではほとんどみられず、ヒト遺伝子では報告のない組織特異性を認めた。大腸菌発現系を用いたマウスAMPD3ペプチドとヒトAMPD3ペプチドの比較で、免疫沈降法により抗原性の交差はあるが抗体反応性には差を認め、基質親和性では基質AMPに対する親和性がマウスAMPD3ペプチドがより高い結果を得た。

以上より、AMPD心筋型アイソザイムは*Ampd3*遺伝子にコードされ、マウス*Ampd3*遺伝子はヒト赤血球型アイソザイムをコードするAMPD3遺伝子の相同遺伝子であるが、その遺伝子調節、遺伝子産物の性質はやや異なるこ

とが明らかとなった。

### 論文審査の結果の要旨

Kannika Sermsuvitayawong はプリン代謝において重要な役割があるAMP deaminase(AMPD) のアイソザイムの研究を行った。特にこの一群の酵素の中でもまだ報告のないげっ歯類心筋における心筋型アイソザイムを対象として分子生物的研究を行い、それをコードするcDNAとゲノムDNAを単離し、染色体上におけるAmpd3の物理的位置を同定した。さらに、単離されたAMPD3のペプチドをヒトについて報告されたAMPD3ペプチドと比較してその性質の違いを蛋白レベルで免疫的生化学的検討し、その特性を明らかにした。

これら一連の研究成果は理学博士の学位論文として十分価値あるものと認められる。