

## アルギニン血症の病因遺伝子の単離 (分担研究：遺伝性疾患の発症予防に関する研究)

森 正敬

**要約：**肝型アルギナーゼは尿素サイクルの最後の反応を行う酵素であり、本酵素の欠損によるアルギニン血症は常染色体性劣性遺伝形式を示す先天性代謝異常症である。すでにクローン化しているヒト肝型アルギナーゼ cDNA をプローブとしてヒト肝型アルギナーゼ染色体遺伝子を単離し構造を決定した。同遺伝子の長さは約12 kb であり、7個のイントロンに分断される8個のエクソンより構成されていた。

**見出し語：**アルギニン血症，高アンモニア血症，アルギナーゼ，遺伝子構造

### 研究方法および結果

正常日本人の末梢血 DNA より EMBL4 をベクターに用いてヒト遺伝子ライブラリーを作成した。ヒト肝アルギナーゼ cDNA をプローブとしてスクリーニングし、本酵素の遺伝子を単離した。エクソン-イントロンの境界領域、5' 領域と3' 領域について塩基配列を決定し、構造解析を行った。また、プライマー伸長法と S1 マッピングにより転写開始点の決定を行った。

末梢血 DNA より EMBL4 をベクターに用いて作成したヒト遺伝子ライブラリーの約100万プラークをスクリーニングし、互いに重なり合う14個のクローンを単離した。制限酵素地図を作成し構

造解析を行ったところ、遺伝子の長さは約12 kb であり、8個のエクソンより構成されていた(図1)。エクソン-イントロンの境界領域ではスプライスドナーサイトとアクセプターサイトはすべて GT/AG の規則に従っていた(図2)。転写開始点は2箇所存在し、翻訳開始コドン“ATG”の5' 上流 58 bp と 55 bp であった。“TATA”および“CAAT box”類似の配列が見られ、それぞれ転写開始点(上流側)より -28 bp と -72 bp であった。また5' 上流領域にはグルコルチコイドレセプター結合部位およびエンハンサーコア塩基配列と類似の配列が存在し、さらに direct repeat と inverted repeat が複雑に組み合わさった配列が

熊本大学医学部遺伝医学研究施設

(Institute for Medical Genetics, Kumamoto University Medical School)

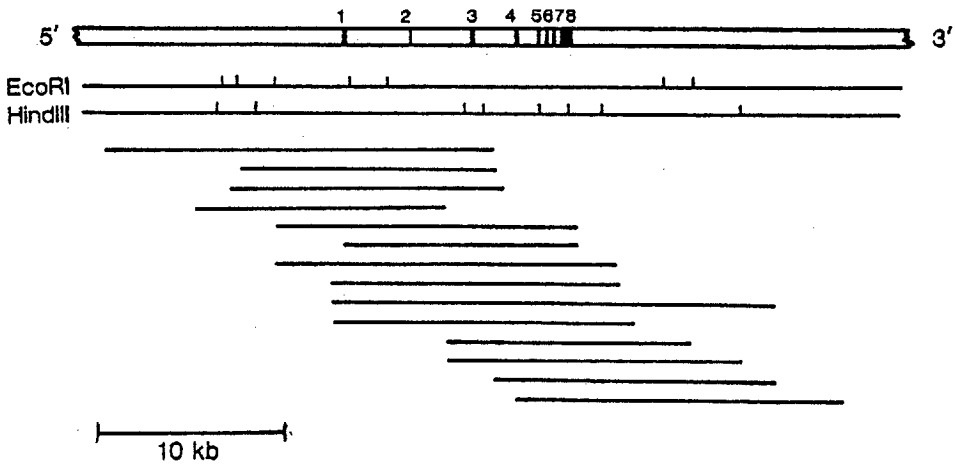


図1 ヒト肝型アルギナーゼ遺伝子の構造。1～8の黒い部分はエクソンを示す。HindIII 切断部位の下の多数の横線は単離したファージクローンを示す。

```

                [GTAAGGAAAAAGCTTTCT...Intron 1...CTTTATTTTTTAATGTYCAG]
ATGAGCGCCAAGTCCAGAACCATAGGGATTATTGGAGCTCCTTTCTCAAAGGGACACCCACGAGGAGGGGTGGAAGAGGCCCTACAGTATTGAGAAAGGCTGGTCTGCTTGAGAACTT
M S A K S R T J G I I G A P F S K G Q P R G G Y E E G P T V L R K A G L L E X L      40
[GTAATTTTTAAGITGAAAA...Intron 2...TCAAAACTTTTTAATTTTAG]
AAAGAACAAGAGTGTGATGTAAGGATTATGGGACCTGCCCTTGTGACATCCCTAATGACAGTCCCTTCAARTGTGAAGAATCCAAGGCTGTGGGAAAAGCAAGCGAGCAGCTG
K E Q E C D V K D Y G D L P F A D I P N D S P F Q I V K N P R S V G K A S E Q L      80
                [GCTTGTGAATAACTGTGT...Intron 3...CAAAATTTTTCCCAAAG]
GCTGGCAAGGTGGCACAAGTCAAGAAGAACGGAAGATCAGCCTGGTGTGGCCGAGACCACAGTTTGGCAATTTGAAGCATCTGTGCCATGCCAGGTCACCCCTGATCTTGGAGTC
A G K Y A Q Y K K H G R I S L V L G G D H S L A I G S I S G H A R Y H P D L G V      120
                [GTAAGAGACTGGTTGGTACT...Intron 4...TGA AACATTGTAATTTAG]
ATCTGGGTGGATGCTCACACTGATATCAACACTCCACTGACACACCACAAGTGGAACTTGCATGGACAACCTGTATCTTTCCCTCTGAAGAACTAAAAGGAAGATTCCTCCGATGTGCCA
I W V D A H T O I H T P L Y T T S G H L H G Q P Y S F L L K E L K G K I P O Y P      160
                [GTAAGCTT...Intron 5...CTTAATTTCTCTTTTATAG]
GGATTCTCTGGGTGACTCCCTGTATATCTGCCAAGGATATGTGTATATTGGCTTGAGAGACGTGGACCTGGGGAACACTACATTTTGA AA ACTTAGGCATTAATACTTTTCAATG
G F S W Y T P C I S A K D I V Y I G L R D Y D P G E H Y I L K T L G I K Y F S M      200
                [GTAGGATCTTTTGTGTG...Intron 6...CCTTCCCACTCTTAAAAG]
ACTGAAGTGGACACTAGGAAATGGCAAGGTGATGGAAGAACACTCAGCTATCTACTAGGAAGAAAGAAAGGCCAATTCATCAAGTTTGTATGTTGACGGACTGGACCCATCTTTC
T E V D R L G I G K Y M E E T L S Y L L G R X K R P I H L S F D Y D G L D P S F      240
                [GTAGTTAAACAATCGAGTA...Intron 7...ATTACAATTTGTTGTTGAG]
ACACAGCTACTGGCACACCAGTCTGGGAGGTCGACATACAGAGAAGGTCTCATACACAGAAGAAATCTACAAAACAGGGCTACTCTCAGGATTAGATATAATGGAAGTGAACCCA
T P A T G T P Y Y G G L T Y R E G L Y I T E E I Y X T G L L S G L D I M E V N P      280

TCCCTGGGSAAGACACCAGAAGAAGTAACTCGAACAGTGAACACAGCAGTTGCAATAACCTTGGCTTGTTCGGACTTGTCTGGGAGGTAATCACAGGCTATTGACTACCTTAAACCA
S L G K T P E E Y T R T V N T A V A I T L A C F G L A R E G N H K P I D Y L N P      320

CCTAAG
P K
    
```

図2 ヒト肝型アルギナーゼ遺伝子のエクソン-イントロン構造。

存在した。エクソン-イントロンの境界領域、5' 領域および3'領域はラット肝アルギナーゼ遺伝子と相同性が高くよく保存されていた。

### 考察

アルギニン血症の病因遺伝子である肝型アルギナーゼ染色体遺伝子をはじめてクローン化しその

構造を決定した。本遺伝子は第6染色体にマップされ、常染色体性劣性遺伝形式をとることと一致する。最近、正常日本人の末梢血DNAを用いて本遺伝子座のRFLPを検索し、PvuIIとHincIIの2種類でRFLPを見出した。PvuIIでは約7%に2.8kbのバンドが、またHincIIでは約9%に1.2kbのバンドが存在し、これらのRFLPは連鎖している様に思われた。さらに多くの制限酵素を用いると共に、染色体遺伝子断片をプローブとしたRFLPの検索を行う予定である。今後は、cDNAおよび遺伝子クローンをを用いたアルギニン血症の核酸レベルでの解析、保因者の検索、出生前診断などが期待される。一方、アルギナーゼ欠損症は交換輸血によって症状の改善が見られることより、赤血球中のアルギナーゼが代償するものと考えられる。従ってアルギナーゼ欠損症は骨髓細胞を用いる遺伝子治療の適応となりうるので、この方向での検討も行いたい。

## 文 献

- 1) Haraguchi Y., Takiguchi M., Amaya Y., Kawamoto S., Matsuda I., and Mori M.: Molecular cloning and nucleotide sequence of cDNA for human liver arginase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 84: 412-415, 1987.
- 2) Haraguchi Y., Takiguchi Y., Matsuda I., and Mori M.: Sequence heterogeneity of human liver arginase cDNAs and restriction fragment length polymorphism of the gene locus. *Jpn. J. Hum. Genet.* 33: 305-313, 1988.
- 3) Takiguchi M., Haraguchi Y., and Mori M.: Human liver-type arginase gene: Structure of the gene and analysis of the promoter region. *Nucl. Acids Res.* 16: 8789-8802, 1988.



## 検索用テキスト OCR(光学的文字認識)ソフト使用

論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります



要約:肝型アルギナーゼは尿素サイクルの最後の反応を行う酵素であり,本酵素の欠損によるアルギニン血症は常染色体性劣性遺伝形式を示す先天性代謝異常症である。すでにクローン化しているヒト肝型アルギナーゼ cDNA をプローブとしてヒト肝型アルギナーゼ染色体遺伝子を単離し構造を決定した。同遺伝子の長さは約 12kb であり,7 個のイントロンに分断される 8 個のエクソンより構成されていた。