

Title	胃酸分泌酵素遺伝子の上流を認識する新しいDNA結合蛋白質
Author(s)	田村, 茂彦
Citation	大阪大学, 1993, 博士論文
Version Type	VoR
URL	<a href="https://doi.org/10.11501/3072882">https://doi.org/10.11501/3072882</a>
rights	
Note	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

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

Osaka University

氏 名 田 村 茂 彦

博士の専攻分野の名称 博 士 (理 学)

学 位 記 番 号 第 1 0 9 4 9 号

学 位 授 与 年 月 日 平 成 5 年 10 月 4 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 胃 酸 分 泌 酵 素 遺 伝 子 の 上 流 を 認 識 す る 新 し い DNA 結 合 蛋 白 質

論 文 審 査 委 員 (主査)  
教 授 二 井 將 光

(副査)  
教 授 中 川 八 郎 教 授 畠 中 章

### 論 文 内 容 の 要 旨

胃粘膜に局在する壁細胞は、胃酸 (HCl) を分泌している。すなわち  $H^+/K^+$ -ATPase によって  $H^+$  が細胞外に分泌され、別のチャンネルによって  $Cl^-$  が分泌されている。本研究では、 $H^+/K^+$ -ATPase の  $\alpha$  および  $\beta$  サブユニット遺伝子の、壁細胞における特異的な転写調節機構を明らかにすることを最終的な目的として、焦点を転写調節に関与していると考えられる DNA の上流配列と DNA 結合蛋白質に絞って研究を進めた。

$H^+/K^+$ -ATPase の  $\alpha$ 、 $\beta$  サブユニットの遺伝子はともに胃において特異的に転写されることを当研究室で明らかにしている。つまり 2 つのサブユニットの遺伝子は共通の発現調節を受けていると考えることができる。本研究ではラットおよびヒトの  $\alpha$  サブユニット遺伝子、ラットの  $\beta$  サブユニット遺伝子のプロモーター領域に特異的に結合する蛋白質を、ラットの胃の核抽出液に検出することができた。これらのプロモーター領域に、同じ蛋白質が結合することを競合実験から示した。推定した結合配列は (G/C) PuPu (G/C) NGAT (A/T) PuPy であり、ヒト  $\alpha$  で 1 箇所、ラット  $\alpha$  で 2 箇所、ラット  $\beta$  で 3 箇所保存されていた。この DNA 結合蛋白質は胃にのみ存在し、特異的な転写を調節している可能性が高い。

胃の核蛋白質が結合する配列は、血液系の細胞に存在する GATA 結合蛋白質 (GATA-1, GATA-2, GATA-3) のものとよく似ていた。そこで GATA 結合蛋白質の DNA 結合ドメインすなわち亜鉛フィンガードメインの部分配列を、ラットおよびマウスの胃、ブタ胃粘膜の cDNA を鋳型として増幅した。この結果、3 種類の新しい DNA 結合蛋白質 (GATA-GT1, GATA-GT2 と GATA-GT3) の部分配列を同定することができた。

ラット胃の cDNA ライブラリーから、ラット GATA-GT1 および GATA-GT2 の全長をコードしている cDNA クローンを単離し、塩基配列を決定した。GATA-GT1 は 391 アミノ酸残基、GATA-GT2 は 440 アミノ酸残基からなり、両者は他の GATA 結合蛋白質と亜鉛フィンガードメイン以外では相同性はほとんどなく (18% 以下)、全く新しい蛋白質であることが明らかとなった。GATA-GT1 および GATA-GT2 には cAMP 依存性プロテインキナーゼによりリン酸化され得る配列が存在していた。これらの蛋白質がリン酸化および脱リン酸化を介して調節を受けている可能性を示唆した。

GATA-GT 1 および GATA-GT 2 の mRNA は主に胃とわずかではあるが腸で検出することができた。GATA-GT 2 の mRNA は精巢にも少量検出できた。またブタの胃を粘膜と筋肉に分けると、粘膜においてのみ GATA-GT 1 および GATA-GT 2 の mRNA を検出できた。このことは、GATA-GT 1 および GATA-GT 2 が胃において  $\alpha$  および  $\beta$  サブユニット遺伝子の転写調節に関与し得ることを示している。

GATA-GT 2 の亜鉛フィンガードメインを含む部分配列ペプチドを大腸菌において発現させた。このペプチドは  $\alpha$  および  $\beta$  サブユニット遺伝子のプロモーター領域の (G/C) PuPu (G/C) NGAT (A/T) PuPy 配列に特異的に結合した。ラット胃の核抽出液を用いた結果と比較して、GATA-GT 2 は胃において特異的な DNA 結合蛋白質そのものである可能性が高いと推定した。

本研究において同定した GATA-GT 1 および GATA-GT 2 は、亜鉛フィンガーを持つ新しい DNA 結合蛋白質である。さらに胃から単離された、最初の DNA 結合蛋白質である。これら 2 種の蛋白質はこれまで未知の領域であった消化管における転写調節の研究に大きな手がかりを与えるものである

### 論文審査の結果の要旨

本論文は、胃粘膜から新しい DNA 結合蛋白質である GATA-GT 1 および GATA-GT 2 を同定し、胃酸の分泌酵素である  $H^+/K^+$ -ATPase の  $\alpha$  および  $\beta$  サブユニット遺伝子の組織特異的な発現調節に関与していることを明らかにした。GATA-GT 1 および GATA-GT 2 についてのこれらの知見は、これまで未知の領域であった、胃そして消化管における転写調節の研究に大きな手がかりを与えるものである。従って博士（理学）の学位論文として十分価値あるものと評価される。