

Title	胃粘膜・壁細胞における遺伝子の特異的な転写調節機構
Author(s)	西, 毅
Citation	大阪大学, 1996, 博士論文
Version Type	VoR
URL	<a href="https://doi.org/10.11501/3109896">https://doi.org/10.11501/3109896</a>
rights	
Note	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

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

Osaka University

氏名	にし 西	つよし 毅
博士の専攻分野の名称	博 士 (理 学)	
学位記番号	第 1 2 3 2 7 号	
学位授与年月日	平成 8 年 3 月 25 日	
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 理学研究科生物化学専攻	
学位論文名	胃粘膜・壁細胞における遺伝子の特異的な転写調節機構	
論文審査委員	(主査) 教授 二井 将光	
	(副査) 教授 畠中 寛 教授 京極 好正 教授 前田 正知	

#### 論 文 内 容 の 要 旨

胃粘膜には高度に分化した細胞が存在しており、胃の特徴的な機能を担う特異的な蛋白質が多く発現している。壁細胞に特異的に発現している蛋白質に、胃酸分泌酵素である  $H^+/K^+$ -ATPase, ヒスタミン  $H_2$  受容体などが明らかになっている。これらの蛋白質の遺伝子の転写の組織特異的な制御についてはこれまで全く研究されていなかった。私はこれらの遺伝子の 5' 非翻訳領域に着目し、これまでに以下のような結果を得た。

1)  $H^+/K^+$ -ATPase の 2 つあるサブユニットの 1 つである  $\beta$  サブユニットのラット遺伝子の 5' 上流領域を解析し、壁細胞での特異的な転写に関与する cis 配列を初めて同定した。胃粘膜から調製した核蛋白質のみが +15 から -185 領域に結合し、結合競合実験およびフットプリント法により、その結合配列は GATAGC であることを明らかにした。さらに、この蛋白質は、 $\alpha$  サブユニット遺伝子 5' 上流の TAATCAGCTG 配列に結合するものと同じであることを明らかにした。これより胃壁細胞に特異的な遺伝子の転写に (G/C) PuPu (G/C) NGAT (A/T) PuPy という配列が関与することを示した。

この配列に結合する因子として、当研究室の田村らにより、胃より新しい GATA 結合蛋白質である GATA-GT 1 (GATA-6) および GATA-GT 2 (GATA-4) が単離された。これらの因子は壁細胞に特異的に発現していることが *in situ* hybridization 法により示された。そこで、GATA-GT 1, および GATA-GT 2 が実際に  $H^+/K^+$ -ATPase 遺伝子の転写を活性化するかどうかについて検討した。

ラット  $H^+/K^+$ -ATPase  $\alpha$  および  $\beta$  サブユニット遺伝子上流領域の 3' 側にルシフェラーゼ遺伝子をつないだレポータージーンプラスミドを構築し、これを GATA 発現プラスミドと同時に HeLa 細胞に導入した。その結果  $H^+/K^+$ -ATPase 遺伝子の転写は GATA-GT 1 あるいは GATA-GT 2 によって 7 から 10 倍活性化されることが示された。さらに GATA-GT 1 および GATA-GT 2 による転写の活性化に関与する領域を同定するために、 $\alpha$  および  $\beta$  サブユニット遺伝子上流領域を、種々の長さで欠失したプラスミドおよび GATA 配列に変異を導入したプラスミドを構築した。各プラスミドの転写活性を検討したところ、GATA-GT 1 および GATA-GT 2 による転写の活性化には TATA 配列のすぐ上流に 2 カ所存在する GATA 配列のみが必須であること、他の位置にある GATA 配列は転写に関係しないことを明らかにした。この 2 カ所の配列に 2 つの GATA 結合蛋白質が結合し、お互いに相互作用することが転写の活性化に必須であると結論した。

2) ヒトのヒスタミン  $H_2$  受容体遺伝子を単離し、その塩基配列を決定した。ヒスタミン  $H_2$  受容体を発現している

胃癌細胞 MKN45細胞を用いて、プロモーター領域と考えられる領域を同定した。この領域に2種類の異なる蛋白質が結合することを明らかにした。それぞれの結合配列は GATTCTAT と TCATGNATTGGG であった。前者は、TFII-I の認識配列と8残基中6残基一致した。この配列に TFII-I が結合し、RNAポリメラーゼ II による転写が起きている結論した。

これらはすべて、胃粘膜における遺伝子の特異的な転写調節機構の研究を今後さらに展開させるための重要な結果である。

#### 論文審査の結果の要旨

胃粘膜・壁細胞に特異的に発現している遺伝子の転写調節機構の解析を培養細胞系を用いて初めて行い、以下の結果を得た。1)  $H^+/K^+-ATPase$  遺伝子の転写を DNA 結合蛋白質 GATA-GT 1, GATA-GT 2 が活性化することを明らかにした。2) ヒスタミン  $H_2$  受容体遺伝子のプロモーター領域を同定し、MKN45細胞が壁細胞のモデル細胞となりうることを示した。以上の成果は博士(理学)の学位論文として、十分価値あるものと認める。