OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

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	https://doi.org/10.11501/3109896
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏名	西（にし） 毅（つよし）
博士の専攻分野の名称	博士（理学）
学位記番号	第 12327 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 將光 （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β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，α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－GT1（GATA－6）およびGATA－GT2（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－GT1，およびGATA－GT2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^+－ATPaseαおよびβサブユニット遺伝子の上流領域の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－GT1あるいはGATA－GT2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－GT1およびGATA－GT2による転写の活性化に関与する領域を同定するために，αおよびβサブユニット遺伝子の上流領域を，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－GT1およびGATA－GT2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による転写が起こっている結論した。

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－GT1，GATA－GT2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。