The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	ヒト・ガストリン遺伝子のクローニングとその構造
Author(s)	加藤, 菊也
Citation	大阪大学, 1984, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/33944
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【6】

氏名・（本籍）	加藤菊也（かとうきくや）
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 6386 号
学位授与の日付	昭和59年3月24日
学位授与の要件	医学研究科 生理系専攻 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	**ヒト・ガストリン遺伝子のクローニングとその構造**
論文審査委員	（主査） 教授 松原 謙一 （副査） 教授 垂井清一郎 教授 本庶 佑

論文内容の要旨

（目　的）

ヒト遺伝子ライブラリーよりガストリン遺伝子を単離し，その構造決定を試みた。

（方法ならびに成績）

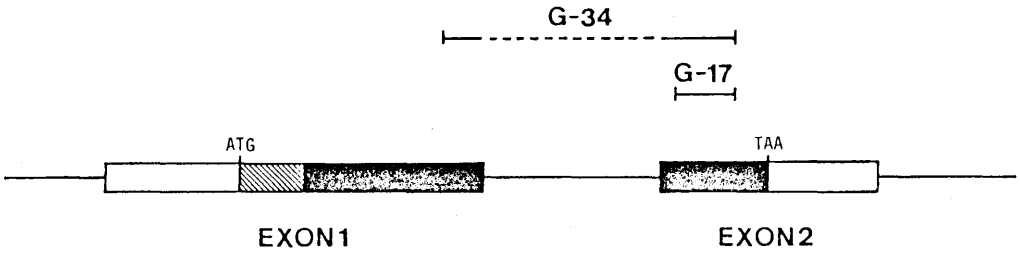
17塩基の化学合成オリゴヌクレオチドをプローブとして，まずブタ・ガストリン前軀体のcDNAクローンを単離した。次にこのクローンの挿入部分をプローブとして，ヒト・ガストリン前軀体の cDNAクローンを単離した。遺伝子の単離には，このクローンより調製した260 bpのHindⅢ断片をプローブとして用いた。スクリーニングしたライブラリーは，ヒト染色体DNAをHaeⅢとAluIで部分分解し，EcoRI linkerを付加した後，λCharon 4Aに組み込んだものである。約7万個のプラークのスクリーニングの結果，3個の陽性クローンを得た。制限酵素で切断したパターンより，3個が同一のものであることがわかったため，1個のクローンのみについて，さらに解析を進めた。

このクローンの制限酵素切断地図及びサザン・ハイブリダイゼーションにより，4.3 kbのBam HI断片上にガストリン遺伝子が存在することがわかった。この断片をpBR 322 にサブクローニングし，pλHG 11と命名した。

pλHG 11の制限酵素切断地図とサザン・ハイブリダイゼーションによりガストリン遺伝子の位置を確認した後，遺伝子とその周辺領域のDNA塩基配列をMaxam－Gilbert 法及びM 13法で決定した。

DNA sequencingの結果，ガストリン遺伝子は，アミノ酸コード領域にある130 bpイントロンにより，2つのエクソンに分断される。このイントロンは，前軀体蛋白の第71番目またbig gastrin（G—34）の13番目のアミノ酸Aspのコドンの第一及び第二塩基の間に認められる。従ってエクソン2はlittle gastrin

（G—17）全体とbig gastrin の4つのアミノ酸を含むことになる。（下図，実線は非転写領域及びイントロンを示す。黒の部分は成熟前軀体蛋白，斜線部分はシグナルペプチド，白の部分は非翻訳領域をそれぞれ示す）。



little gastrin がgastrin の最終的活性型であるから，エクソン2にはガストリンの full activity に必須な部分がコードされ，エクソン1にはそうでない部分がコードされている，といえる。

次に，ガストリンmRNAの開始点を決定するために，S1 nuclease mappingを施行した。プローブとしては，ガストリン前軀体蛋白のシグナル領域から5′側上流を含む1.1kb Bam H1－Hind Ⅲ 断片を用いた。その結果，開始Metコドンの上流約110 bp付近よりmRNAが転写されていることがわかった。

（総　括）

1）ヒト・ガストリンcDNA クローンの挿入部分をプローブとして，ヒト遺伝子ライブラリーをスクリーニングし，ヒト・ガストリン遺伝子をクローニング，その塩基配列を決定した。

2）ガストリン遺伝子はアミノ酸コード領域にある130bpのイントロンにより2つのエクソンに分断される。イントロンはbig gastrin の—^{13}Asp—コドンの第一及び第二塩基の間に認められる。

3）このイントロンにより，遺伝子は2つの部分，即ちガストリンのfull activity に必須な部分と，そうでない部分にわけられることが明らかになった。

4）この遺伝子クローンを用いることにより腫瘍組織におけるガストリン分子及び遺伝子の解析，ホルモン産生組織内における発現調節機構の解析が可能となった。

論文の審査結果の要旨

本論文は，従来未決定であったガストリン遺伝子の構造を初めて決定したものであり，その結果，ガストリンの生理活性のfull activity に必須な部分は一つのエクソン内にコードされていることが明らか

になった。従って本論文は，消化管ホルモンに関して新しい重要な知見を加えたものであり，博士論文として十分に価値があるものと考えられる。