

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、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について <a>〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

【 6 】

氏名・(本籍)	か 加	とう 藤	まく 菊	や 也
学位の種類	医	学	博	士
学位記番号	第	6 3 8 6	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)

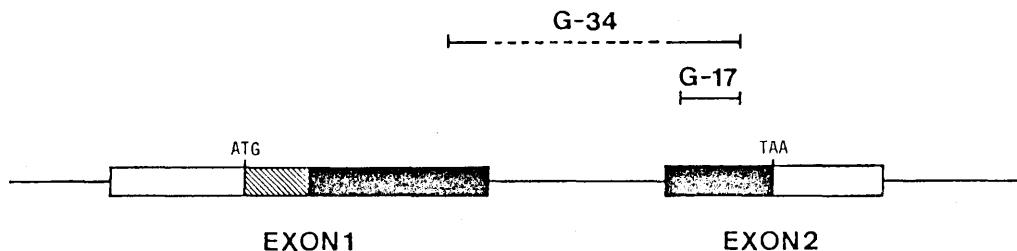
17塩基の化学合成オリゴヌクレオチドをプローブとして、まずブタ・ガストリン前駆体の cDNA クロオンを単離した。次にこのクロオンの挿入部分をプローブとして、ヒト・ガストリン前駆体の cDNA クロオンを単離した。遺伝子の単離には、このクロオンより調製した 260 bp の Hind III 断片をプローブとして用いた。スクリーニングしたライブラリーは、ヒト染色体 DNA を Hae III と AluI で部分分解し、EcoRI linker を付加した後、λ Charon 4 A に組み込んだものである。約 7 万個のプラークのスクリーニングの結果、3 個の陽性クロオンを得た。制限酵素で切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

このクロオ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、pλ HG 11 と命名した。

pλ HG 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、前駆体蛋白の第 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。黒の部分は成熟前駆体蛋白, 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 に必要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, ガストリン前駆体蛋白のシグナル領域から 5' 側上流を含む 1.1 kb 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 $-^{13}\text{Asp}$ 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 に必要な部分と, そうでない部分に分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 に必要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。