

Title	Structure and Properties of a Novel Gastric DNA-Binding Protein (GATA-GT2)
Author(s)	王, 暁輝
Citation	大阪大学, 1994, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/38810
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

【14】

氏名	わん 王 しょう 暁 ぱい 輝
博士の専攻分野の名称	博士(工学)
学位記番号	第 11349 号
学位授与年月日	平成6年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 工学研究科醗酵工学専攻
学位論文名	Structure and Properties of a Novel Gastric DNA-Binding Protein (GATA-GT 2) (胃粘膜の DNA 結合蛋白質 (GATA-GT 2) の構造と性質)
論文審査委員	(主査) 教授 二井 将光 教授 大嶋 泰治 教授 山田 靖宙 教授 今中 忠行 教授 新名 惇彦 教授 吉田 敏臣 教授 卜部 格 教授 高野 光男 教授 菅 健一

論文内容の要旨

胃粘膜に局在する壁細胞は胃内腔へ胃酸 (HCl) を分泌しており、その結果、内腔の pH は 1 付近となっている。すなわち、 H^+/K^+ -ATPase によって H^+ が胃内腔に分泌され、別のチャンネルによって Cl^- が分泌されている。このような酸分泌系は壁細胞に特異的なものである。本研究では、 H^+/K^+ -ATPase の二つのサブユニット遺伝子の転写に注目し、この遺伝子が、壁細胞において特異的に転写される過程に関与する DNA 結合蛋白質を同定したものである。

第 1 章は緒論であり、胃酸分泌と遺伝子の転写の制御に関する過去の知見を整理概説し、本研究の意義について述べている。

第 2 章では、ラットの胃の cDNA ライブラリーから、新しい DNA 結合蛋白質 GATA-GT 2 蛋白質をコードしている cDNA クローンを単離し、塩基配列を決定している。すなわち、GATA-GT 2 は 440 アミノ酸残基からなり、他の DNA 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、全く新しい蛋白質であることを明らかにしている。次に、GATA-GT 2 蛋白質の mRNA は主に胃の粘膜と、わずかではあるが腸で検出できることを示している。これらの結果は、GATA-GT 2 蛋白質が胃において H^+/K^+ -ATPase 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。

第 3 章では、GATA-GT 2 蛋白質および別途に同定された GATA-GT 1 蛋白質の亜鉛フィンガードメインを含む部分配列を glutathione-S-transferase との融合蛋白質として大腸菌において発現させた後に、精製している。この融合蛋白質が H^+/K^+ -ATPase 遺伝子のプロモーター領域の上流にある (G/C)PuPu(G/C)NGAT(A/T)PuPy 配列に特異的に結合することを示している。この結果は GATA-GT 2 および GATA-GT 1 蛋白質が H^+/K^+ -ATPase 遺伝子の発現調節領域に結合することを示している。

第 4 章では、GATA-GT 2 蛋白質が cAMP 依存性プロテインキナーゼによってリン酸化されることを示している。さらに、Ser-261 部位の変異によって、リン酸化されなくなることを明らかにしている。また、この蛋白質のリン酸化によって DNA 結合活性が増加したことを示し、リン酸化によって調節を受ける可能性を強く示唆している。

第 5 章では、壁細胞に対する抗体を持つ自己免疫性胃炎の患者の血清の性状を系統的に検討し、患者の壁細胞に対する抗体がそれぞれ異なるエピトープを認識していることを示している。この結果は自己免疫性胃炎の病因の理解の一助となるものである。

第6章では、本論文で得られた結果を総括し、GATA-GT2をはじめとする転写調節因子に関する今後の研究の方向について展望を述べている。

論文審査の結果の要旨

ヒト、ラット等の胃の壁細胞に存在する胃酸分泌酵素 (H^+/K^+ -ATPase) の構造と機能およびその遺伝子の転写機構の研究は生物学、分子生物学および医学的見地から重要である。また ATP を分解し、イオンを細胞外に輸送するという本酵素のオスモエンザイムとしての反応機構は生物化学的にも注目されている。本論文は H^+/K^+ -ATPase がなぜ胃粘膜に発現しているか、という基本的な疑問に答える第一歩となるものである。本論文の内容で特に重要な点は以下のとおりである。

- (1) ラットの胃の cDNA ライブラリーから亜鉛フィンガードメインを持つ新しい DNA 結合蛋白質 GATA-GT2 の全長をコードしている cDNA クローンを単離し、全塩基配列を決定している。さらにこの cDNA に対応する mRNA を胃の粘膜に特異的に検出している。
- (2) GATA-GT2 蛋白質と GATA-GT1 蛋白質が H^+/K^+ -ATPase 遺伝子の転写開始部位であるプロモーター領域の上流に特異的に結合することを示している。
- (3) GATA-GT2 蛋白質がリン酸化によって DNA 結合活性を増加させること、およびリン酸化によって調節されている可能性を強く示唆している。

以上のように本論文は胃粘膜に特異的に存在する GATA-GT2 蛋白質を同定し、この蛋白質が H^+/K^+ -ATPase 遺伝子の胃粘膜における転写の制御に関与しうることを示している。これらの成果は独創的な着目点に立ったものであり、新しい DNA 結合蛋白質 GATA-GT2 の発見は生物学上高く評価されるものである。よって本論文は博士論文として価値あるものと認める。