

30-0251 W30-2

ヒト非胃型プロトンポンプ ATP1A1 の exon4 欠失体

○大平 裕太¹, 安瀬 武人¹, 高橋 佑司¹, 森井 孫俊¹, 竹口 紀晃¹, 酒井 秀紀¹
(¹富山医薬大薬)

【目的】 K^+ 依存性 ATPase ファミリーに属する ATP1A1 は、生理機能が未解明のヒト非胃型プロトンポンプである。最近、当研究室においてヒトの大腸に ATP1A1 の新規スプライシングバリエーションである exon4 欠失体 (Δ exon4) 遺伝子が発現していることを発見した。本研究では、この ATP1A1 の Δ exon4 が normal type (NT) と異なる機能を持つのか検討した。

【方法】胃型プロトンポンプ β サブユニットを安定発現させた HEK 及び LLC-PK1 細胞に、ATP1A1 遺伝子 (NT 及び Δ exon4) を組み込んだ pcDNA4/His ベクターを導入し、タンパク質の発現、ATPase 酵素活性及びイオン輸送活性を測定した。イオン輸送活性は、 K^+ の代替イオンとして $^{86}Rb^+$ を用いて測定した。

【結果および考察】ATP1A1 Δ exon4 は、HEK 及び LLC-PK1 細胞において NT と同様に原形質膜に発現した。 Δ exon4 の発現効率は NT の約 30%だった。ATP1A1 を阻害することが報告されている ouabain や SCH2080 を用いて ATPase 活性を測定した結果、 Δ exon4 はこれらの阻害剤に感受性の ATPase 活性を示さなかった。また、 K^+ 依存性の ATPase 活性も持たなかった。 Rb^+ の輸送活性測定でも同様に Δ exon4 は輸送活性を示さなかった。 Δ exon4 が NT のドミナントネガティブとして働き、NT の機能を調節している可能性について検討中である。我々は、以前に大腸ガンで ATP1A1 遺伝子が過剰発現していることを見出している。現在、大腸ガンにおける Δ exon4 の発現について検討を進めている。