

Title	Analysis of the Regulation of Heat Shock Response and the Function of its Product
Author(s)	木村, 洋子
Citation	大阪大学, 1992, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/38036">https://hdl.handle.net/11094/38036</a>
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">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

Osaka University

## 【22】

氏名	木村洋子
博士の専攻分野の名称	博士（理学）
学位記番号	第 10128 号
学位授与年月日	平成 4 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 生理学専攻
学位論文名	Analysis of the Regulation of Heat Shock Response and the Function of its Product (熱ショック反応の制御とその産物の機能解析)
論文審査委員	(主査) 教授 谷口 維紹 (副査) 教授 小川 英行 東京都臨床医学総合研究所 矢原 一郎

## 論文内容の要旨

熱ショックなどの種々のストレスによって、細胞内には熱ショックタンパク質 (Heat Shock Protein, HSP) と呼ばれる一群のタンパク質の発現が誘導される。これらのタンパク質は細胞をストレスから守る役割を持つと考えられる。ストレスに対する細胞応答の機構と、そのときに発現誘導される HSP の機能を解析することによって、生物が持つ防御機構を明らかにしようと考えて、研究を進めた。

HSE (Heat Shock Element) は、HSP 遺伝子の上流にある特異的な配列 HSE (Heat Shock Element) に結合する転写因子である。動物細胞の HSF は非ストレス下に HSE 結合能力を持たずに細胞質に存在し (非活性型)、熱ショックなどの処理を受けると活性型に変換し、核内移行して機能を発揮する。ショ糖密度勾配遠心とゲルシフト法を組み合わせ、ヒト HeLa 細胞の HSF の沈降係数が活性化に伴い 4 S から 8 S に変わることを示し、両者の分子構築が異なることを明らかにした。更に HSF 活性化の分子構築の変換には、HSF 以外の因子が必要であることを示唆する結果も得た。

次に、主要な熱ショックタンパク質の 1 つである HSP90 の機能解析を出芽酵母を用いて行った。一倍体当たり 2 つある HSP90 遺伝子の一方を破壊し、他方が GAL I プロモーター支配下の株を作った。GAL I プロモーターからの HSP82 の発現が止まると、細胞は 5-6 回分裂した後生育を止め死に至った。多くの細胞で細胞周期上重要と考えられる微小管構造の進展が止まっていた。

さらに、HSP82 条件致死変異株を、改変したプラスミドシャッフリング法によって作成し、4 株の高温致死変異株 (YOK5, YOK8, YOK9, YOK25) と 1 株の高温かつ低温致死変異株 (YOK27) を得た。どの変異株も 1 アミノ酸の変化で条件致死性を生じていた。変異株の性質を調べた結果、まず YOK5 では制限温度下で DNA 合成が顕著に阻害された。出芽の状態から YOK5 細胞は制限温

度に移してから長時間（4－5時間）G1期にとどまっていた。高温に移すと野性株も一過的に（1時間）増殖が止まるが、YOK8とYOK9はその時間が3－4時間と長くなった。YOK25とYOK27は通常の成育温度でもDNAの合成速度が非常に遅かった。

得られた結果より、HSP90は細胞周期を進める上で、特にG1/S期の付近でなんらかの役割を担っていることが示唆された。更に、変異株によって様々な性質を示したので、HSP90の機能的なドメインを分ける手がかりが得られた。

### 論文審査の結果の要旨

本論文は動物細胞に於ける熱ショック反応の制御機構及び酵母における熱ショックタンパク質のひとつであるHSP90の機能の解析に関するものである。本研究によって今まで未知であった非活性化型HSFが4Sの沈降係数を持つことを明かにし、更にそれが活性化された後、不活性化細胞質抽出分画の因子と共に安定な8Sの活性化型HSFに変換することを証明した。更に一連の酵母HSP90の変異株を作製しその解析を通してHSP90が細胞周期特にG1/S期に重要な役割を担っていることをはじめて明らかにした。以上、一連の研究は熱ショック反応の機構解明に大きく貢献するものであり、博士（理学）の学位論文として十分価値あるものと認める。