



Title	Molecular cloning and functional characterization of mouse Nxf family gene products
Author(s)	佐々木, 光穂
Citation	大阪大学, 2005, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/46207
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">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed >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

氏 名 さ さ き みつ ほ 佐々木 光 穂

博士の専攻分野の名称 博 士 (医 学)

学 位 記 番 号 第 19803 号

学 位 授 与 年 月 日 平成 17 年 9 月 30 日

学 位 授 与 の 要 件 学位規則第4条第1項該当

医学系研究科情報伝達医学専攻

学 位 論 文 名 Molecular cloning and functional characterization of mouse *Nxf* family gene products
(マウス *Nxf* 関連遺伝子群のクローニングおよび機能解析)

論 文 審 査 委 員 (主査)

教 授 米田 悦啓

(副査)

教 授 遠山 正彌 教 授 田中亀代次

論 文 内 容 の 要 旨

〔 目 的 〕

タンパク質をコードする mRNA は、イントロンを含んだ mRNA の前駆体として核内で転写された後、様々な転写後修飾を受け成熟し、翻訳の場である細胞質へと輸送される。mRNA の核外輸送の一般的なモデルは、成熟 mRNA のエキソン-エキソン接合部に結合するタンパク質複合体に核外輸送因子である Tap が結合して細胞質へ運び出すというものであるが、非常に多種多様な mRNA が単一の輸送機構で核外に輸送されているとは考えにくい。Tap は、出芽酵母からヒトに至るまで進化的に保存された Nuclear eXport Factor (NXF) ファミリー遺伝子に属する。出芽酵母では単一種の *Nxf* 関連遺伝子のみを持つのにに対し、線虫、ショウジョウバエ、ヒトなどでは、Tap に加えて複数の *Nxf* ファミリー遺伝子産物を発現していることが報告されている。しかしながら、マウスにおける *Nxf* ファミリーの機能解析は報告がない。そこで、本研究ではマウスの *Nxf* 関連遺伝子群のクローニングと機能解析を行うことを目的とした。

〔 方法ならびに成績 〕

まず、マウスのゲノムデータベースおよび EST データベースを利用し、*Nxf* 関連遺伝子群のクローニングを行った。その結果、4 種のマウス *Nxf* 関連遺伝子群 (Tap、*Nxf2*、*Nxf7*、*Nxf3*) が得られ、さらに各々の発現様式および生化学的な機能解析を行った。まず発現様式は、Tap は調べた組織すべてで発現がみられたのに対し、*Nxf2*、*Nxf7*、*Nxf3* は組織特異的な発現がみられた。また、精巣で発現がみられる Tap、*Nxf2*、*Nxf3* は精巣内における発現細胞種、発現時期が異なるという知見が得られた。次に、GFP 融合タンパク質の細胞内局在は、Tap、NXF2 は核に局在がみられたが、NXF7、NXF3 は細胞質に主な局在がみられた。さらに、importin β ファミリーに属する核外輸送因子 CRM1 の阻害剤である LeptomycinB 処理により、NXF3 の局在は核へと変化した。Tap は自身の C 末端領域と核膜孔複合体構成タンパク質 (ヌクレオポリン) のフェニルアラニン-グリシン反復配列 (FG-リピート) とのアフィニティーにより核膜孔を通過することが示されているが、この FG-リピートへの結合能は Tap、NXF2 のみが有していた。また、mRNA 核外輸送時の必須共役因子 p15/NXT1 との結合能は Tap、NXF2、NXF3 が有していた。さらに、UV

crosslink 法により *in vivo* における mRNA への結合を調べたところ、いずれのファミリーも mRNA に結合していることを見い出したが、CAT レポーターを用いた mRNA 核外輸送アッセイにおいては Tap、NXF2 に mRNA 核外輸送能の活性がみられたのに対し、NXF7、NXF3 に活性はみられなかった。

〔 総 括 〕

本研究では、4 種のマウス Nxf ファミリー遺伝子をクローニングし、その機能の解析を行った。Tap の示す生化学的な性質との比較から、NXF2 は Tap 同様の mRNA 核外輸送因子であると考えられる。NXF2 は脳、精巣において特異的な発現がみられることから、これらの組織において特異的な mRNA 種の核外輸送因子として機能している可能性が示唆された。また、NXF3 は Tap とは異なり、importin β ファミリーの CRM1 を用いた経路で核外輸送され、核一細胞質間をシャトルしていることを見い出した。また、NXF7 は細胞質に斑点状の特徴的な局在を示し、細胞質の構造体に強く結合していることが示唆された。これらの結果から、NXF3、NXF7 は組織特異的に発現し、細胞質における mRNA のメタボリズムに関与している可能性が考えられた。本研究により、Nxf ファミリーが mRNA 核外輸送因子としての機能の他に、細胞質における mRNA の運命決定などに機能している可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

本研究では、mRNA の核外輸送因子である Tap が属し、酵母からヒトに至るまで保存されている Nuclear eXport Factor (NXF) ファミリータンパク質の機能解析を目的とした。

申請者は、いままで機能が明らかとなっていないマウスの NXF ファミリーに注目し、マウス NXF ファミリー遺伝子のクローニングおよび機能解析を行った。マウスのゲノムデータベースおよび EST データベースを利用し、Nxf 関連遺伝子群のクローニングを行い 4 種のマウス Nxf 関連遺伝子群 (Tap/Nxf1、Nxf7、Nxf2、Nxf3) を得た。それぞれの遺伝子の発現様式および生化学的な機能解析を行ったところ、Tap の示す生化学的な性質との比較から、NXF2 は Tap 同様の mRNA 核外輸送因子であると考えられた。NXF2 は脳、精巣において特異的な発現がみられることから、これらの組織において特異的な mRNA 種の核外輸送因子として機能している可能性が示唆された。また、NXF3 および NXF7 は mRNA の核外輸送活性を示さなかったが、*in vivo* において mRNA に結合していることから細胞質における mRNA のメタボリズムに関与している可能性が考えられた。また、NXF7 は細胞質に斑点状の特徴的な局在を示し、NXF3 は Tap とは異なった経路で核一細胞質間をシャトルしていることを見い出した。これら NXF ファミリーのさらなる解析により、NXF ファミリーが多種多様な mRNA の核外輸送を担い、さらには細胞質における mRNA の運命を決定するような機能を有していることが明らかになる可能性が期待される。

以上のような理由から、申請者の研究は博士 (医学) の学位に値すると考えられる。