

Title	Involvement of serine/threonine kinase DRAK2 in apoptosis
Author(s)	栞原, 宏
Citation	大阪大学, 2006, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/46481">https://hdl.handle.net/11094/46481</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>〉</a> をご参照ください。

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

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

Osaka University

氏名	くわ  はら  ひろし 葉  原  弘
博士の専攻分野の名称	博  士 (理  学)
学位記番号	第  2 0 0 3 2  号
学位授与年月日	平成 18 年 3 月 24 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 理学研究科生物科学専攻
学位論文名	Involvement of serine/threonine kinase DRAK2 in apoptosis (セリン/スレオニンキナーゼ DRAK2 のアポトーシスへの関与)
論文審査委員	(主査) 教授 金澤 浩 (副査) 教授 小倉 明彦 教授 河村 悟 教授 滝澤 温彦

#### 論 文 内 容 の 要 旨

##### 〈目的〉

アポトーシスは細胞内外からの刺激により引き起こされ、その刺激は様々な経路で伝わり調節をうけている。これまでに私たちはカルシウム結合性カルシニューリン B 様タンパク質 (CHP) に結合する分子として、セリン・スレオニンキナーゼ、DRAK2 を見いだした。さらにこの DRAK2 を細胞に過剰発現させるとリン酸化活性に依存してアポトーシスを誘導することを見いだした。しかし DRAK2 がどのようなシグナルを伝達しアポトーシスに導くのか、またその時に DRAK2 が細胞内でいかなる制御を受けているのかは明らかになっていない。そこで本研究においては DRAK2 が引き起こすアポトーシスの分子機構を明らかにすることを目標とし、次の 3 点に焦点を当てて研究を行った。1) DRAK2 の細胞内局在の解析。2) DRAK2 を介するアポトーシスシグナルの探索。3) *in vitro* における CHP による DRAK2 の機能制御の解明。

##### 〈結果、考察〉

**1) DRAK2 の細胞内での局在** : DRAK2 によるアポトーシスの分子機構解明の一環として、DRAK2 の細胞内局在を調べた。するとラット上皮細胞 (NRK) では核に、ラット大腸ガン細胞 (ACL15) では DRAK2 は主として細胞質に局在していた。このことから細胞により DRAK2 の局在が異なることが明らかになった。DRAK2 の構造を検討したところ C 末端側に核移行シグナル (NLS) として働きうる KRFR という配列が見いだされ、DRAK2 は本来核への局在能を持つことが予想された。この配列を他のアミノ酸に置換した変異体では核に局在しなくなり、またこの配列を GFP に結合させると GFP は核に局在するようになった。従って DRAK2 は本来核移行能を持つことが示された。

**2) UV 照射によるアポトーシスへの DRAK2 の関与** : 内性性の DRAK2 が核で発現するような細胞種 (NRK) に DRAK2 を過剰に発現させるとアポトーシスが誘導された。一方 DRAK2 が主として細胞質に局在する ACL-15 細胞では過剰発現によるアポトーシスはみられなかった。これらのことから DRAK2 が核に発現することがアポトーシスの誘導に必要であると考えられた。次に ACL-15 細胞において DRAK2 の細胞内局在が核へと変化するような刺激を探索した。その結果 UV 照射によりアポトーシスの形態変化に先立って DRAK2 の局在が細胞質から核へと変換することが明らかとなった。これらのことから DRAK2 は細胞内で紫外線照射によるアポトーシスに関与することが示唆

された。

3) **CHPによる DRAK2の活性抑制**: DRAK2の性質を解析するために、大腸菌で DRAK2を発現させ精製した。精製した DRAK2は自己リン酸化活性ならびにミオシン軽鎖リン酸化活性を保持していた。DRAK2に精製した CHPを加えリン酸化能に与える影響を解析したところ DRAK2の自己リン酸化活性ならびにミオシン軽鎖リン酸化活性が低下することが見いだされた。これらのことから CHPは細胞内で DRAK2のリン酸化活性を制御することが示唆され、紫外線照射によるアポトーシスにおいて DRAK2が CHPにより制御を受けている可能性が考えられた。

これらの結果より DRAK2は紫外線照射により局在を細胞質から核へと変化させることでアポトーシスのシグナルを伝達する分子であること。ならびにその制御は DRAK2に存在する NLS、ならびに CHPにより行われている可能性が示された。

#### 論文審査の結果の要旨

申請者は、**Involvement of serine/threonine kinase DRAK2 in apoptosis**

と題する博士論文を提出した。この研究においては、申請者の属する研究室でこれまで新たに発見した蛋白質リン酸化酵素 (DRAK2) の機能や細胞内の局在の機構について新たな発見が行われた。すなわち、この酵素を細胞内に多量に発現させると細胞はアポトーシス (細胞死) を引き起こす。この細胞死に関して、紫外線があれば、DRAK2分子の多量の存在なしにも細胞内に既存の DRAK2分子により細胞死が引き起こることを示した。また、この細胞死ではこの分子が細胞内の核に存在することが必要であることも併せて新規に明らかにした。

国際誌に研究成果は発表されている。主査1名、副査3名を含む公開の場で予備審査、本審査を行ない、研究成果の発表および質疑応答を行った結果、博士論文内容に値するとの判断が下された。論文内容と上記の公聴会結果を総合し、本論文は、博士 (理学) の学位論文として十分価値のあるものと認めた。