



Title	ストレスによる低分子量Gタンパク質Ranの局在変化の分子機構とその生理的意義の解明
Author(s)	安田, 善也
Citation	大阪大学, 2007, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/47209
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、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	やす 安 だ よし 也
博士の専攻分野の名称	博士(理学)
学位記番号	第 21340 号
学位授与年月日	平成19年3月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 生命機能研究科生命機能専攻
学位論文名	ストレスによる低分子量Gタンパク質Ranの局在変化の分子機構とその生理的意義の解明
論文審査委員	(主査) 教授 米田 悅啓 (副査) 教授 近藤 寿人 教授 田中亀代次

論文内容の要旨

低分子量Gタンパク質Ranは、核・細胞質間タンパク質輸送、細胞周期制御、核膜の構築などに重要な役割を果たすことが知られている。細胞分裂間期においてRanは、そのほとんどが核内にGTP結合型として局在しており、この核と細胞質間におけるRanの濃度勾配が、核・細胞質間タンパク質輸送の方向性を保証していると考えられている。

これまでに、酸化ストレス(過酸化水素; H₂O₂)により通常核に多く存在するRanが細胞質にも見られるようになることが明らかとなっていた。今回、この現象の分子機構を解明するために、まず、酸化ストレス条件下におけるHeLa細胞内のATP量をluciferin-luciferase法により測定したところ、酸化ストレスにより細胞内のATP量が減少することが分かった。また、ストレスを解除するとRanの局在、細胞内のATP量が共に元に戻り、Ranの局在変化と同じ時間経過で細胞内のATP量が変化することが明らかになった。次に、ATP量の減少とRanの局在変化的関係を明確にするため、細胞内のATP量を減少させる薬剤(Apyrase等)でHeLa細胞を処理したところ、酸化ストレスと同じようなRanの局在変化が見られた。一方、過酸化水素処理したHeLa細胞にATP再生系を微量注入したところ、酸化ストレス下にも関わらずRanは通常の局在を示した。また、熱ショックストレスやUV照射した細胞のRanの局在を観察したところ酸化ストレスと同じように局在が変化していた。さらに、このとき細胞内のATP量が減少していることがわかった。

酸化ストレス処理した細胞内のGTP結合型Ran(RanGTP)をimportin β 1のN末に結合するRanの量を解析した結果、酸化ストレス条件下ではRanGTP量が減少していることが明らかとなった。さらに、核内にWGAを微量注入した細胞にH₂O₂を処理したところ、WGAを注入した細胞でもRanの局在が変化したことから、ストレスによるRanの局在変化は自由拡散で起こることがわかった。

最後に、Ranの局在変化的生理的意義をするために核輸送機構にどのような影響を及ぼすのかを調べた。つまり、Ranに依存して核へ移行する塩基性NLS基質(GST-NLS-RFP)とRanに依存しない核移行経路を持つMAPK(Erk2)にGFPを融合させたリコンビナントタンパク質を、H₂O₂処理したHeLa細胞の細胞質に微量注入し、その輸送効率を比較した。その結果、酸化ストレスによりGST-NLS-RFPの核輸送効率は著しく低下するが、GFP-MAPKの核輸送効率は変化しないことが明らかとなった。

以上のことから、ストレスによる細胞内のATP量の低下がRanGTP量を減少させ、その結果、Ranの局在が変化し、Ranに依存した核輸送効率を低下させることが明らかとなった。

論文審査の結果の要旨

低分子量 GTPase Ran は、核・細胞質間タンパク質輸送に重要な役割を果たすことが知られている。通常、Ran はそのほとんどが核内に局在しており、核・細胞質間タンパク質輸送の方向性を保証していると考えられる。本研究では、H₂O₂、UV 照射、熱ショックにより、細胞質の Ran 量が増加する現象を見出した。また、これらのストレス条件下では細胞内の ATP 量が低下すること、さらに、H₂O₂ 处理した細胞内への ATP 再生系の注入によって Ran の局在が元の核局在を示すことを明らかにした。また、酸化ストレス条件下では遊離 RanGTP 量が低下していることから、細胞内 ATP の減少が GTP 量の低下をもたらし、ひいては細胞内 RanGDP の増加をもたらすことにより、Ran の局在変化を誘導するのではないかということを示唆することができた。これらの結果から、ストレスによる Ran の局在変化のモデルを提唱するに至った。

ストレス条件下における核輸送機構の制御と、これを誘引する分子メカニズムを明らかにしたもので、ストレス応答の初期反応を明らかにするこれまでにない研究であり、学位に値するものと認める。