



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 だ よし なり
安 田 善 也

博士の専攻分野の名称 博 士 (理 学)

学 位 記 番 号 第 2 1 3 4 0 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 悦啓

(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； H_2O_2 ）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 の局在変化の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 H_2O_2 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 の局在変化の生理的意義をし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 を融合させたりコンビナントタンパク質を、 H_2O_2 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、 H_2O_2 、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、 H_2O_2 処理した細胞内への 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。