

Title	NXF2 is involved in cytoplasmic mRNA dynamics through interactions with motor proteins.
Author(s)	高野, 敬三
Citation	大阪大学, 2007, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/48954
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"〉 大阪大学の博士論文について 〈/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	たかの 敬三
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 2 1 4 6 0 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 19 年 4 月 23 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	NXF2 is involved in cytoplasmic mRNA dynamics through interactions with motor proteins. (NXF2 はモータータンパクと結合し、細胞質における mRNA のダイナミクスに関わっている。)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 米 田 悦 啓 (副査) 教 授 田 中 亀 代 次 教 授 花 岡 文 雄

論 文 内 容 の 要 旨

[目 的]

Tap/NXF1 は、核内で転写された mRNA を翻訳の場である細胞質へと輸送する核-細胞質間輸送因子である。近年、Tap に配列上の相同性を示す遺伝子産物が同定され、Nuclear RNA eXport Factor (NXF) ファミリーと呼ばれるタンパク質ファミリーを形成することが知られている。NXF ファミリータンパク質は、多細胞生物では複数種発現していることが知られており、マウスでは Tap/NXF1 の他に、NXF2、NXF3、NXF7 が同定されている。このうち NXF2 は、Tap/NXF1 と同様に mRNA の核外輸送活性を示すことが知られている。しかしながら、なぜ多細胞生物において同様の活性を有する複数の mRNA 核外輸送因子が発現しているのかという疑問は未だ明らかにされていない。この多様性の意義の理解を目的とし、本研究では、NXF2 について機能解析を行った。

[方法ならびに成績]

NXF2 の機能解析にあたり、まず NXF2 と結合する因子の探索を行った。酵母 2 ハイブリッドスクリーニングを実施し、NXF2 の結合因子の候補としてモータータンパク質 (KIF9、KIF17、DyneinCLC) を得た。この中でも機能が比較的良好にわかっている KIF17 に注目して、GST pull-down アッセイ、および co-immunoprecipitation アッセイにより、NXF2 と KIF17 が *in vitro*、*in vivo* で結合することを確認した。

KIF17 は神経細胞の樹状突起において特徴的なドット状の局在を示し、その顆粒は樹状突起先端に向かって動くことが報告されている。そこで、初代培養神経細胞に NXF2 と Green Fluorescent Protein (GFP) との融合タンパク質 (GFP-NXF2) を発現させ、その局在を調べた。GFP-NXF2 は、核および核のリム部に強い局在を示し、それに加えて樹状突起において特徴的なドット状の局在を示した。また、KIF17 と GFP-NXF2 を初代培養神経細胞内で共発現させ、両者の局在を解析したところ、樹状突起において両者は共局在を示した。さらにタイムラプス観察により、GFP-NXF2 を含んだ顆粒は、平均速度約 $0.13 \mu\text{m/s}$ で樹状突起内を両方向に動くことを見出した。微小管の重合阻害剤である Nocodazole によって劇的に阻害されることから、GFP-NXF2 の顆粒の動態は、微小管依存的事であることが明らかとなった。

細胞内の局所における外界からの刺激に応じたタンパク質の翻訳は、神経細胞では、その極性形成やシナプス可塑性の形成に重要な役割を示すことが知られている。神経細胞では局所で翻訳されるある種の mRNA は、“RNA 顆粒”と呼ばれる RNA-タンパク質複合体により、樹状突起のシナプス近傍にまで輸送されることが知られている。GFP-NXF2 の顆粒の挙動は報告されている RNA 顆粒の挙動と酷似していた。そこで、RNA 顆粒のマーカーとの共局在について検討した。Staufen1 タンパク質、および、poly(A)+RNA の局在は、樹状突起において NXF2 の顆粒のシグナルとよく一致した。しかしながら、樹状突起に局在化する mRNA として知られている CaMKIIa mRNA のシグナルは、GFP-NXF2 の顆粒のシグナルとは全く共局在しなかった。したがって、NXF2 は CaMKIIa 以外の mRNA の局在化に関与していることが示唆された。

[総 括]

本研究では、NXF2 は、Tap/NXF1 には異なり、mRNA の核外輸送因子として機能するのみならず、KIF17 との相互作用を介して樹状突起への mRNA の局在化に関与する多機能性タンパク質であることを明らかにした。

また、Tap/NXF1 は、全ての組織・臓器でユビキタスに発現しているのに対し、NXF2 は脳および精巣に特異的に発現している。脳や精巣では神経細胞のシナプス可塑性の制御や、生殖細胞の分化などにおいて、mRNA の翻訳制御や局在化といった転写後のレベルでの遺伝子発現機構が重要な役割を果たすことが知られている。NXF2 の多機能性が、これら高次細胞機能の発現に関与していることが推察された。

論文審査の結果の要旨

Nuclear RNA Export Factor (NXF) ファミリーは、Tap/NXF1 に代表される mRNA 核外輸送因子ファミリーとして知られている。マウスにおいては、これまでに 4 種 [Tap/NXF1、NXF2、NXF3、NXF7] が同定されている。この中で、Tap/NXF1 は大部分の mRNA の核外輸送を担っており、多くの生物種で生育に必須であることが知られている。NXF2、NXF3、NXF7 については様々な解析が行われているにもかかわらず、詳しい機能はわかっていない。本研究は、NXF2 について機能解析を行い、NXF 遺伝子産物の多様性について考察したものである。

申請者は、NXF2 の結合因子として KIF17 を含む細胞質モータータンパク質を同定した。そして、NXF2 は初代培養神経細胞の樹状突起において RNA 顆粒に局在を示すことを見出した。また、その顆粒には KIF17 が共局在し、微小管依存的に樹状突起にそって両方向に動く性質を示した。これらの結果から、NXF2 は mRNA の核外輸送のみならず、モータータンパク質と結合することにより、細胞質での mRNA の局在化に関わることを初めて明らかにした。マウスなどの高等真核生物では、Tap/NXF1 に加え、NXF2 を獲得することにより、脳や精巣での高次細胞機能の発現を達成していることが推察された。

本研究は、mRNA の核外輸送因子が細胞質における mRNA の局在化にも関与することを初めて示した結果であり、学位に値するものと認められる。