

| | |
|--------------|---|
| Title | Quantitative Regulation of Nuclear Pore Complex Proteins by O-glcNAcylation |
| Author(s) | 波田, 千彰 |
| Citation | 大阪大学, 2013, 博士論文 |
| Version Type | |
| URL | https://hdl.handle.net/11094/60022 |
| 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 | 波田 千彰 |
| 博士の専攻分野の名称 | 博士(理学) |
| 学位記番号 | 第 26270 号 |
| 学位授与年月日 | 平成25年3月25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 | Quantitative Regulation of Nuclear Pore Complex Proteins by O-GlcNAcylation (糖修飾による核膜孔複合体構成蛋白質の量的制御) |
| 論文審査委員 | (主査) 教授 米田 悦啓 (副査) 教授 目加田 英輔 教授 平岡 泰 教授 吉森 保 |

論文内容の要旨

It is one of the most characteristic features of eukaryotic cells that the nucleoplasm is separated from the cytoplasm by a nuclear membrane. Therefore, for cells to live, it is essential to exchange molecules between the nucleus and cytoplasm.

The nuclear pore complex (NPC) is a macromolecular assembly, which is responsible for nucleocytoplasmic transport. It consists of approximately 30 different proteins called nucleoporins. Several nucleoporins are O-GlcNAcylated, which is a post-translational modification in which the monosaccharide β -N-acetylglucosamine (GlcNAc) is attached to serine or threonine residues within the proteins. However, the biological significance of this modification on nucleoporins remains obscure.

In this research, I focused on the function of O-GlcNAcylation of nucleoporins. I show that OGT, which is an enzyme adding GlcNAc on intracellular proteins, mediates O-GlcNAcylation of nucleoporins, especially Nup62 and Nup153. I found that although the permeability barrier function of the NPC and importin α/β -mediated nuclear import through the NPC was not affected, Nup62 and Nup88 protein levels were significantly decreased upon knockdown of OGT. Although

Nup88, unlike Nup62, was not recognized by an anti-O-GlcNAc antibody or WGA-HRP, knockdown of Nup62 caused a reduction in Nup88 protein levels, suggesting that the observed decrease in Nup88 in OGT knocked-down cells is due to a decrease in Nup62. Furthermore, I found that Nup88 preferentially associated with O-GlcNAcylated Nup62 compared with non-O-GlcNAcylated Nup62.

Collectively, I demonstrate that Nup62 protein levels are primarily maintained by O-GlcNAcylation and that Nup88 is quantitatively regulated through its interaction with O-GlcNAcylated Nup62.

論文審査の結果の要旨

核膜孔複合体は、脊椎動物では分子量約120 MDa、約30種類のヌクレオポリンと呼ばれる蛋白質からなる巨大な蛋白質複合体で、真核細胞の核膜を貫通し、核一細胞質間の物質輸送をはじめ、様々な細胞機能に関わっている。ヌクレオポリンの中には、N-アセチルグルコサミントランスフェラーゼ (OGT) によって、そのセリン、スレオニン残基にN-アセチルグルコサミンが単糖で付加される翻訳後修飾 (O-GlcNAcylation) を受けるものがあるが、その意義についてはほとんど明らかにされておらず、本論文は核膜孔複合体蛋白質におけるO-GlcNAcylationの意義を明らかにする事を目的とした論文である。

この目的のために、申請者はOGTをヒト培養細胞においてsiRNAを用いてノックダウンを行い、核膜孔複合体構成蛋白質であるNup62、Nup88を中心に詳しく解析している。

その結果、OGTノックダウンにより、Nup62、Nup153をはじめ、核膜蛋白質のO-GlcNAcylationが減少する事を確認している。また、OGTをノックダウンすると、細胞の増殖速度が減少する事も示されている。一方で糖蛋白質からN-アセチルグルコサミンをはずす酵素であるOGAをノックダウンしても、核膜蛋白質の糖修飾に大きな変化がない事が示されている。

さらに申請者の実験結果からは、OGTをノックダウンしても、核膜孔複合体の透過性や核一細胞質間蛋白質輸送に明確な変化は見られないものの、O-GlcNAcylationを阻害されたNup62の蛋白質量が減少する事を明らかにしている。また、別の核膜孔複合体構成蛋白質であるNup88もOGTノックダウンによりその蛋白質量が減少する事、Nup88がNup62とサブコンプレックスを形成している事、Nup88それ自体はO-GlcNAcylationを受けないが、Nup88がNup62と相互作用するためにはnup62のO-GlcNAcylationが必要である事を明らかにした。さらに、Nup62のsiRNA法によるノックダウン実験より、Nup62とNup88の蛋白質量が相互に関係しており、一方が減少すると、他方も減少する関係にある事を示し、O-GlcNAcylationによる核膜孔複合体構成蛋白質の量的制御機構の可能性を提示している。以上の結果は、核膜孔複合体構成蛋白質が糖鎖修飾を受ける生理的意義の一端を明らかにしたものであり、本論文は学位論文に値する論文であると結論する。