



Title	Functional coupling of organic anion transporter OAT10 (SLC22A13) and monocarboxylate transporter MCT1 (SLC16A1) influencing the transport function of OAT10
Author(s)	大津, 尚子
Citation	大阪大学, 2023, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/92022
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 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

論文内容の要旨

Synopsis of Thesis

氏 名 Name	大津 尚子
論文題名 Title	Functional coupling of organic anion transporter OAT10 (SLC22A13) and monocarboxylate transporter MCT1 (SLC16A1) influencing the transport function of OAT10 (有機アニオントランスポーターOAT10の輸送機能に与るモノカルボン酸トランスポーターMCT1との機能共役)
論文内容の要旨 〔目的(Purpose)〕 生体膜を介する物質輸送においては、単一トランスポーターの機能のみでは説明できない現象が表面化しており、分子複合体の解析が進行中である。基質を共有する複数のトランスポーターが、タンパク質間相互作用や脂質ラフト等により複合体を形成し、近接配置することで効率的に機能共役する可能性が示唆されている。そこで本研究では、有機アニオントランスポーターOAT10 (SLC22A13) の輸送機能が発現系によって異なることに着目し、その原因として、基質を共有する他のトランスポーターとの機能共役の観点から解析することを目的とした。 〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕 OAT10はニコチン酸、β-ヒドロキシ酪酸 (β-HB), p-アミノ馬尿酸, オロチン酸などの有機陰イオンを輸送することが報告されている。そこで、OAT10を外因的に発現させたアフリカツメガエル卵母細胞およびHEK293細胞により、これらの基質取り込みを比較した結果、β-HBでは両発現系間で顕著な違いが見られた。OAT10発現卵母細胞はβ-HBを最も取り込むのに対し、OAT10発現HEK293細胞はβ-HB取り込みが最も少なく、非発現細胞との差は僅かであった。これは、HEK293細胞においてOAT10により取り込まれたβ-HBが近傍に存在する別のトランスポーターにより排出される機能共役を示唆する。この仮説を検証すべく、HEK293細胞に内因的に発現し、OAT10と機能共役するトランスポーター及び両者を繋ぐ足場タンパク質となるPDZタンパク質を探索し、トランスポーター間の機能共役を検証した。 HEK293細胞に内因的に発現するタンパク質をLC-MS/MSによる網羅的プロテオミクスで探索した。その結果、OAT10と同様に有機陰イオンを輸送するトランスポーターであるモノカルボン酸トランスポーターMCT1 (SLC16A1), MCT2 (SLC16A7), 多剤耐性タンパク質MRP2 (ABCC2), MRP4 (ABCC4) を含む74分子及びトランスポーターと相互作用する報告が多いPDZタンパク質NHERF1 (SLC9A3R1) を含む43分子が同定された。同様にOAT10と共免疫沈降するタンパク質を同定したところ、OAT10発現細胞において非発現細胞より高く検出されたトランスポーターは22分子及びPDZタンパク質は7分子であった。このうち、OAT10と同様にβ-HBを輸送する報告があるMCT1及び最も高く検出されたNHERF1を候補として以降の検討を行った。OAT10, MCT1およびNHERF1の発現は、定量PCRまたはウェスタンブロッティングにより確認した。OAT10とMCT1及びNHERF1の物理的な相互作用を確認するため、NHERF1をノックダウンしたOAT10発現HEK293細胞を用いて共免疫沈降し、ウェスタンブロッティングで同定したところ、OAT10とMCT1の共免疫沈降はNHERF1の発現に依らず見られ、NHERF1はOAT10とMCT1の相互作用に影響しないことが示された。 次に、OAT10とMCT1による機能共役を評価する前に、HEK293細胞に内因的に発現するMCT1をノックダウンし、MCT1による輸送機能を評価した。MCT1の基質であるβ-HBおよびニコチン酸のHEK293細胞への取り込みは、いずれもMCT1のノックダウンにより低下し、MCT1がHEK293細胞において機能することが判明した。続いてOAT10とMCT1の機能共役を評価するために、OAT10発現HEK293細胞および非発現細胞を用いて、OAT10とMCT1の共通基質であるβ-HBおよびニコチン酸、OAT10選択的基質であるオロチン酸の取り込み実験を行った。OAT10とMCT1の共通基質であるβ-HBおよびニコチン酸はOAT10発現細胞における取り込み速度を増加させたのに対し、OAT10選択的基質であるオロチン酸の取り込み速度は変化しなかった。 以上、共免疫沈降の結果から、OAT10とMCT1は、物理的な相互作用により近傍に発現することが明らかになった。さらに、MCT1をノックダウンしたOAT10発現HEK293細胞への取り込み実験から、OAT10とMCT1の共通基質においては、OAT10によって取り込まれ、近傍に発現するMCT1により排出される機能共役が示唆された。 〔総括(Conclusion)〕 HEK293細胞に外因的に導入されたOAT10は、内因的に発現するMCT1の近傍に発現し、OAT10とMCT1の共通基質を効率的に輸送する機能共役を示唆した。本機能共役は、アフリカツメガエル卵母細胞とHEK293細胞の両OAT10発現系における基質選択性の違いを説明する仮説として証明された。	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名)		大津 尚子	
論文審査担当者	(職)	氏	名
	主査	大阪大学教授	金井 好亮
	副査	大阪大学教授	岡村 康司
	副査	大阪大学教授	島田 昌一
論文審査の結果の要旨			
生体膜を介する物質輸送においては、単一トランスポーターの機能のみでは説明できない現象が表面化しており、基質を共有する複数のトランスポーターが近接配置することで効率的に機能共役する可能性が示唆されている。本研究は、有機アニオントランスポーターOAT10 (SLC22A13) の輸送機能が発現系によって異なることを見出し、トランスポーター間の機能共役の観点からその機序を解析した。その結果、HEK293細胞にOAT10を発現させると、内因的に発現するモノカルボン酸トランスポーターMCT1 (SLC16A1) と複合体を形成して、OAT10が取り込んだ基質をMCT1が排出することで、OAT10の見かけ上の基質選択性が変化することが示された。本研究は、トランスポーターの機能共役が輸送機能に実際に影響することを実証したと同時に、発現系を用いた薬物評価時の留意点を明示したものであり、学位に値するものと認める。			