

論文の内容の要旨

論文題目

細胞の増殖と分化に関与する MgcRacGAP の核移行シグナルの同定とその機能の検討

MgcRacGAP, which is involved in cell growth and differentiation, harbors a bipartite nuclear localization signal and binds to importin α 1.

指導教官 北村 俊雄 教授

東京大学大学院医学系研究科

平成 12 年 4 月 入学

医学博士課程

生殖・発達・加齢専攻

氏名 包 迎春

MgcRacGAP は増殖と分化の調節機構と細胞分裂との両者において、重要な働きをもつ分子である。今回、学位申請者は、MgcRacGAP のいろいろな欠損変異体の細胞内における局在を検討し、その 165-204 番目のアミノ酸配列が核移行に必要であることを明らかとした。さらにこの配列中の塩基性アミノ酸クラスター-Lys182, /Arg183/Arg184 および Lys199/Lys200 に対するアラニン置換型変異体が核移行できないことを見出した。これらが双極型の核移行シグナル (NLS) として働いている可能性が考えられたため、MgcRacGAP が importin のシステムを介して核移行するの否かを検討した。優性劣性変異体である importin β 1 の C 末端欠損変異体 (β 1 Δ 450-867) を HeLa 細胞に過剰発現すると、ほとんどの内在性 MgcRacGAP が細胞質内にのみ局在し、核への移行が障害された。このことから MgcRacGAP が importin β 1 を利用して核移行している可能性が

強く示唆された。yeast two-hybrid の系を用いて MgcRacGAP と importin α 1, α 3, α 4 α 5, α 6, および β 1が結合するか否かを検討し、importin α 1のみが MgcRacGAP と結合することを見出した。さらに importin α 1および β 1をバキュロウイルスの系を用いて発現させ精製し、各々のタンパクを用いた pull-down アッセイを行ったところ、MgcRacGAP は importin α 1と結合するが β 1とは結合しないことを見出した。これらより MgcRacGAP は importin α 1と直接結合し、 α 1をアダプターとして β 1を介して核移行する可能性が示唆された。また Rac が MgcRacGAP の局在を制御するか否かを検討した。MgcRacGAP と恒常的活性化型変異体 RacV12 を共に過剰発現すると、MgcRacGAP の一部は細胞膜付近に集積して局在した。MgcRacGAP と恒常的不活性化型変異体 RacN17 を共に過剰発現しても MgcRacGAP の局在はほとんど核のみであり変化が見られなかった。これらの結果から MgcRacGAP は双極型 NLS を利用して核移行し、核外移行するときには活性化 Rac により核膜から細胞膜方向に運ばれる分子である可能性がある。