

学位論文抄録

胚中心 B 細胞機能分子 GANP は選択的 mRNA
輸送に関与し細胞分裂に必須である
(Germinal center-associated nuclear protein (GANP) is essential for cell
division through regulation of selective mRNA export)

岡 元 信 和

指導教員

水田 博志 教授

熊本大学大学院医学教育部博士課程医学専攻運動骨格病態学

阪口 薫雄 教授

熊本大学大学院医学教育部博士課程医学専攻免疫学

学位論文抄録

[目的] mRNA の核外輸送は、生命現象の根幹に関わる分子機構である。近年、出芽酵母の解析によって、mRNA 核外輸送に関わる分子の欠損が遺伝子傷害を引き起こすことが明らかにされている。一方哺乳細胞における mRNA 核外輸送は酵母と類似しているものの、未だその詳細は解明されていない。本研究では GANP 分子が、酵母の転写に共役した mRNA 核外輸送に関わる SAC3 との相同性を有することに着目し、哺乳細胞における mRNA の核外輸送と細胞増殖における役割を検討した。

[方法] GANP の mRNA 核外輸送における機能の解析を、HeLa 細胞を用いた RNA 干渉法によって行った。細胞増殖に及ぼす影響をフローサイトメーター解析、蛍光免疫染色法、ウェスタンブロット法で解析した。細胞周期関連遺伝子の mRNA 発現を半定量的 RT-PCR とリアルタイム PCR で解析した。mRNA の細胞内局在について *in situ* RNA ハイブリダイゼーションを用いた。さらに姉妹染色体間交換 (SCE) の頻度は BrdU 標識した細胞をギムザ染色し、観察した。

[結果] *ganp* の発現抑制により、セントロメア領域での姉妹染色体間接着が障害されていた。姉妹染色体を接着する働きを持つコヒーシンの局在と発現には異常を認めず、チェックポイントについても正常に機能していたが、姉妹染色体間接着を分裂中期まで保持する分子である hSgo1 の発現が低下していた。その結果、G2/M 期における細胞周期停止とアポトーシス細胞の増加を認めた。その原因として核内に hSgo1 mRNA の集積がみられ、mRNA 核外輸送の障害が示唆された。この mRNA 輸送には GANP の SAC3 相同領域が必要であった。しかし他の細胞周期関連遺伝子の発現については変化を認めなかった。更に *ganp* の発現抑制により、SCE の頻度が減少し、広範な DNA 損傷の可能性が示唆された。

[考察] GANP がヒト細胞において hSgo1 の mRNA 核外輸送に関わることを確認された。その機能には SAC3 相同領域が重要であった。哺乳細胞で GANP が輸送する mRNA には選択性を有し、この点は明らかに酵母における SAC3 とは異なっていた。GANP は細胞周期の進行に重要な役割を果たしており、その発現低下は癌化に関与する可能性が考えられる。また、SCE の機構にも関わることを確認され、相同組換え修復などの染色体安定性に重要な働きを持つ可能性が示唆された。GANP が輸送する標的 mRNA の詳細な情報を得ることは、哺乳細胞の癌化の分子機構を明らかにする上で重要であると考えられた。

[結論] 本研究において GANP が hSgo1 mRNA の核外輸送に関わり、細胞分裂の制御において重要な役割を果たす分子であることを明らかにした。