

29【P1】 I -148

tRNA-グアニントランスグリコシラーゼの高発現に伴う細胞内タンパク質の変動解析
○小坂 武志¹, 石渡 俊二¹, 池川 繁男¹(¹近畿大薬)

【目的】修飾核酸キューオシンの合成酵素として知られる tRNA-グアニントランスグリコシラーゼは、分子量 60kDa のサブユニット (TGT60kDa) が、白血病や大腸がんなどで高発現する一方、がん細胞の分化に伴う発現量の減少や脱ユビキチン化酵素活性を示すなど、がん細胞の増殖やアポトーシスと深く関わる事が推測されている。そこで今回、TGT60kDa によるがん細胞の分化制御に関わる情報伝達因子を明らかにすべく、TGT60kDa 強制発現細胞の形態的变化を観察するとともに、細胞内タンパク質の発現変動を解析した。

【方法】TGT60kDa の強制発現株は、ヒト白血球よりクローニングした TGT60kDa の cDNA を pIRES2-EGFP にサブクローニング後、ヒト胎児腎細胞株由来 HEK293 細胞にトランスフェクトして樹立した。細胞の形態はヘマトキシリン/エオジン染色した細胞を顕微鏡下に観察した。細胞内タンパク質の発現変動は 2 次元電気泳動による differential display によって解析するとともに、ターゲットタンパク質はトリプシンによって消化後、得られるペプチド混合物を MALDI-TOF/MS 分析に付し、データベース検索した。

【結果・考察】TGT60kDa を強制発現させた細胞株は、細胞質の巨大化、多核細胞の出現など、形態的に大きな変化が認められた。また、親細胞である HEK293 では、等電点の異なるピメンチン(Mr:54kDa)が 3 スポット認められたのに対して、強制発現細胞では 1 スポットに変動していることが判った。ピメンチンは、リン酸化などの翻訳後修飾により細胞骨格タンパク質としての機能を変化させることが知られており、TGT60kDa がピメンチンを介して細胞増殖を制御しているものと推測され、細胞のがん化機構を考える上で興味深い。