

30S-am07

メタロチオネイン核内移行因子の機能解析

○大西 沙樹¹, 宮山 貴光¹, 小椋 康光¹, 鈴木 和夫¹ (¹千葉大院薬)

【目的】当研究室において、これまでに細胞周期の進行に伴って発生する活性酸素種 (ROS) とメタロチオネイン (MT) の核内移行が同期することから、MT は核内の抗酸化因子として機能していると想定してきた。さらに semi-intact 細胞を用いた核内移行モデルにおいて、過酸化水素 (H_2O_2) や一酸化窒素 (NO) が MT の核内移行を増強し、細胞質成分として用いた赤血球 lysate 中に MT 核内移行因子が存在することを報告した。本研究では、細胞質成分として赤血球 lysate に代わり、種々の条件下で得られた臓器の可溶性画分を用いることにより、MT 核内移行因子についてさらに解析を加えた。

【方法】ジギトニン処理により semi-intact な状態にしたヒト子宮頸癌 HeLa 細胞に、蛍光標識した MT、細胞質成分および H_2O_2 を添加し、共焦点レーザー顕微鏡により定量化することにより、MT 核内移行因子を評価した。また、用いた細胞質成分に含まれる内在性 MT 量を、semi-micro HPLC-ICP-MS により MT に結合する銅及び亜鉛量から見積もった。分離には Shodex KW802.5-2E カラム (2.0 mm i.d. × 250 mm) を用い、試料注入量を 5.0 μ L として流速 40 μ L/min で溶出した。

【結果及び考察】生理的に MT の濃度が高く、核内移行が観察されるマウス新生児肝臓および胎児により調製した可溶性画分を細胞質成分として用いると、赤血球 lysate を用いた時と同様に、標識 MT の核内移行が有意に増強された。しかし、新生児期の生理的な MT 濃度上昇が消失した 8 週齢マウス肝可溶性画分を用いると標識 MT の核内移行は認められなかった。以上のことより、生理的に MT 濃度が高く、核内移行が起こっている臓器から調製した可溶性画分には、MT だけでなく、MT の核内移行因子も同時に誘導され、MT の核内移行を制御している機構が想定された。