

熊本大学学術リポジトリ

Kumamoto University Repository System

Title	Mitochondrial ROS signaling regulated by protein S-guanylation
Author(s)	Rahaman Md. Mizanur
Citation	
Issue date	2013-09-27
Type	Thesis or Dissertation
URL	http://hdl.handle.net/2298/28922
Right	

ラハマン モハメド ミザヌール氏の学位論文審査の要旨

論文題目

Mitochondrial ROS signaling regulated by protein S-guanylation

(タンパク質 S-グアニル化によるミトコンドリア活性酸素シグナルの制御機構)

活性酸素や親電子物質によるタンパク質チオール基の修飾は、細胞内レドックスシグナルの重要なプロセスである。8-ニトログアノシン 3',5'-環状 1 リン酸 (8-ニトロ-cGMP) は、活性酸素と一酸化窒素 (NO) に依存して生成するシグナル分子であり、タンパク質中のチオール基と反応して cGMP 構造を付加する翻訳後修飾 (タンパク質 S-グアニル化) によりシグナル伝達に関わっている。近年、ミトコンドリアでは各種タンパク質のチオール基修飾が生理機能制御に関わることが示唆されてきたが、S-グアニル化の役割については未解明である。そこで申請者は、質量分析法 (LC-MS/MS) を用いたプロテオミクスの手法による S-グアニル化タンパク質同定法を開発し、ミトコンドリアの S-グアニル化タンパク質を同定すると共に S-グアニル化の生理的役割について検討した。

C6 ラットグリオーマ細胞ミトコンドリア画分を対象として、イムノアフィニティーによる S-グアニル化ペプチド精製や二次元電気泳動を行うことで LC-MS/MS を用いた S-グアニル化タンパク質の同定法を確立した。次に、本同定法を用いることで、活性酸素と NO の産生を惹起するリポ多糖と炎症性サイトカイン刺激をした C6 細胞では、stress-70 (mortalin) や 60 kDa heat shock protein (HSP60) をはじめ様々なタンパク質が S-グアニル化を受けることを明らかにした。

Mortalin や HSP60 は、ミトコンドリアの膜透過性を司る mPTP チャンネルの開口制御に関与していることが知られていることから、S-グアニル化が mPTP チャンネル開口へ与える影響を検討した。カルセインを用いた mPTP チャンネル開口解析の結果、リポ多糖とサイトカイン刺激後の活性酸素や NO の産生に依存的に mPTP チャンネルの開口がおきること、チャンネルの開口は HSP60 の S-グアニル化に相関すること、また、8-ニトロ-cGMP 処理した C6 細胞では HSP60 の S-グアニル化とともに mPTP チャンネル開口が起こることを明らかにした。以上の結果より、8-ニトロ-cGMP による HSP60 の S-グアニル化は mPTP チャンネルの開口を誘導し、レドックスシグナルによるミトコンドリアの機能制御に関わるものと結論した。

審査の過程では、ミトコンドリアを解析対象とした理由、細胞内における S-グアニル化の制御機構と制御因子、S-グアニル化を受けたチオール基の割合、プロテオミクスで使用したデータベースの種類、非刺激正常細胞における S-グアニル化タンパク質の生理機能、S-グアニル化による mPTP チャンネル開口制御の生理的・病態生理的意義、ミトコンドリア病やがん化と S-グアニル化との関連、HSP60 の S-グアニル化部位と mPTP チャンネル開口の関連メカニズム、mortalin の S-グアニル化の生理的意義、ミトコンドリア膜電位測定の有無、等について質疑応答がなされ、申請者から概ね適切な回答と考察がなされた。

本研究は、ミトコンドリアにおける S-グアニル化タンパク質を初めて同定し、S-グアニル化によるミトコンドリアの機能制御を示したものである。S-グアニル化が活性酸素と NO による細胞内シグナル伝達機構解明に寄与する可能性を示したものであり、学位の授与に値するものと評価した。

審査委員長 病態生化学担当教授

山崎 和也