

2A4b Jurkat 細胞の γ -線および UV 照射によって変化するタンパク質のプロテオミクス解析

(広島大理¹・広島大原医²・広島大学院理³・広島大 QuLLis⁴)

神田慎太郎¹⁾・秋元志美²⁾・泉 俊輔^{3,4)}・鈴木文男²⁾・平田敏文³⁾

一般に γ -線によって誘発されるアポトーシスは、紫外線によるアポトーシスに比べ進行が遅いことが知られている。このことはアポトーシスのシグナル伝達に関わる因子が γ -線によるものと紫外線によるものとは異なっていることを示している。本研究では、 γ -線照射によるアポトーシスのシグナル伝達に関わる因子を網羅的に明らかにするため、ヒト癌細胞に γ -線を照射し、二次元電気泳動と質量分析法を用いて応答性タンパク質を網羅的に解析し、紫外線によるアポトーシスの場合と比較した。

実験にはヒト由来 Jurkat 細胞を用いた。照射によるタンパク質の発現および分解の変化を調べるために、アポトーシスが十分に進行した状態にある細胞 (γ -線照射では 15Gy を 48 時間照射したもの、紫外線照射では UV-C, 20J/m² を 6 時間照射したもの) を用い、それらの原形質液を二次元電気泳動により分離し、泳動パターンを比較した。pH レンジ 5.5~6.7 での二次元電気泳動の結果、 γ -線照射の場合も紫外線照射の場合も新たに同じ 7 つのスポットが出現した。これらのスポットを MALDI-TOF 質量分析装置を用いてペプチドマスフィンガープリント解析した。その結果、アポトーシスによって新たに出現したスポットは、Rho GDP dissociation inhibitor, acidic ribosomal protein P0, ^{3,5}-^{2,4}-dienoyl-CoA isomerase, Stathmin, RuvB-like 1, SH3 domain-binding glutamic acid-rich-like protein および L-lactate dehydrogenase B chain の 7 種のタンパク質であった。この中で、Rho-GDP-dissociation inhibitor および Stathmin は、アポトーシスの際に変化するタンパク質としてこれまでも報告されていた。^{1,2)} またこれまでにわれわれはアポトーシスの際に ribosomal protein P2 が変化することを見出しており、今回の ribosomal protein P0 の変化はアポトーシスの際にリボゾームの構造に何らかの変化が生じていることを示唆するものである。一方、その他の 4 種類のタンパク質はアポトーシスの際に変化するタンパク質として今回始めて同定された。

以上の結果より、アポトーシスの際に変化するタンパク質として 7 種のタンパク質を同定した。これらのタンパク質の変化は γ -線照射の場合でも紫外線照射の場合でも現れており、 γ -線照射による特徴的なタンパク質変化を捉えることはできなかった。また、これら 7 種のタンパク質はペプチドシグナルの分析により通常はリン酸化されており、アポトーシスの際には脱リン酸化されていることがわかった。このことより、 γ -線照射や紫外線照射によるアポトーシスの際にはプロテインホスファターゼなどの脱リン酸化酵素が活性化されていることが示唆された。

1) B. Zhang et al., *Cancer Research*, **65**(14), 6054-6062 (2005).

2) Y. Kim, et al., *J. Health Science.*, **51**(2), 224-232(2005).