

4.

IFN- α 誘導性のアポトーシスにおける
Bax- α の解析

(免疫学)

○矢那瀬紀子, 豊田博子, 秦喜久美,

水口純一郎

(内科学第二)

大島一太

インターフェロン (IFN) には抗ウイルス作用, 細胞増殖抑制作用があり, 臨床応用が試みられているが, 未だに確立された治療法ではない. 我々は Daudi B 細胞株を用いて, IFN の増殖抑制作用について解析を進めている. IFN 処理により Daudi B 細胞株にはアポトーシスが誘導され, アポトーシス関連タンパクの Bax- α (P21) の変異型 P18 が出現した. この P18 の生成機序および機能について検討した.

【方法】 [1] Northern blotting 法で, アポトーシス期前後における Bax- α mRNA を比較した. さらに, In vitro Transcription & translation 法で作成した ^{35}S 標識 HA-Bax- α をアポトーシス細胞の溶解物とともに培養し, SDS-PAGE にかけるタンパク分解を解析した. [2] Bax- α の局在を調べた. 細胞溶解物を遠心分離操作によりミトコンドリア分画, 細胞質に分けて, Bax- α の発現をウェスタンブロッティング法にて解析した.

【結果】 [1] 正常, アポトーシス細胞の Bax- α mRNA を比較したところ, バンドサイズに差異は認められなかった. ^{35}S 標識 HA-Bax- α (24KD) はアポトーシス細胞の溶解物とともに培養すると, 新たに 21KD のバンドが出現し, それに伴い 24KD の量は減少した. 以上の結果から p18 生成は alternative splicing による産物の可能性は低く, P21 の切断によると考えられる. [2] 細胞における Bax- α の局在を調べたところ, P21 は正常およびアポトーシス細胞のミトコンドリア分画, 細胞質ともに存在したが, P18 はアポトーシス細胞のミトコンドリア分画でのみ検出された. 同時に cytochrome C は細胞質に溶出してくることが明らかになった. 今後は, P18 Bax- α のアポトーシス誘導における役割について検討を加えたい.

5.

RNA 特異的アデノシンデアミナーゼ
(ADAR1) 遺伝子の発現調節

(内科学第一)

○川久保健, 大屋敷一馬

(Dept. of Biol. Sci. Univ.

of California, Santa Barbara) Charles E. Samuel

ADAR1 は C-6 の deamination により double-strand RNA のアデニン (A) をイノシン (I) に変換する酵素である. 基質 RNA は measles virus genome のほか glutamate や serotonin 受容体の前駆体 mRNA であり, この事実は ADAR1 の発現が感染防御のみならず神経機能にも関与することを示唆している. ADAR1 は p150 と p110 の 2 種の isoform からなり p150 form はその promoter 領域に IFN sensitive responder element (ISRE) が存在し type I interferon (IFN) により発現が誘導される. 一方, p110 form は IFN による誘導性は認められず, その遺伝子構造と promoter 領域は不明であった. 我々は ADAR1 (p110) の cDNA および promoter 構造を解明する目的で, cDNA ライブラリーより 5'-RACE 法にて ADAR1 (p110) の 5'-末端の非翻訳領域 (5'-UTR) をクローニングし塩基配列を決定した. ADAR1 (p110) の 5'-UTR は 2 つの exon からなり第 2 exon は ADAR1 (p150) と一致したが, 第 1 exon は翻訳開始点を欠き ADAR1 (p110) に特異的であった. λ -genomic ライブラリーによる mapping の結果, ADAR1 (p110) 5'-UTR 内の第 1 exon は p150 の第 1, 2 exon の間に位置し, ルシフェラーゼアッセイではその 5'-flanking region に promoter 活性を認め, また ADAR1 (p110) の 5'-UTR に含まれる第 2 exon も同様に promoter 活性を示した. これら promoter は IFN による誘導性は認めなかった. 以上より ADAR1 の発現は 1 つの IFN-inducible promoter と最低 2 つの basal promoter の関与が示唆された.