

## [課程－ 2 ]

## 審査の結果の要旨

氏名 片野 厚人

本研究は、放射線ストレスによる細胞への影響を tRNA の観点から理解するために、ヒト由来培養細胞株においてエックス線照射時の tRNA の細胞内局在を明らかにすることを目的とし、下記の結果を得ている。

1. エックス線照射 (0.5Gy、1Gy、4Gy) 後の非小細胞肺癌由来細胞株(H1299)におけるメチオニン tRNA(tRNA<sup>Met</sup>)の細胞内分布の変化を fluorescence in situ hybridization (FISH)にて解析した。エックス線照射 2 時間後に細胞固定を行い解析した結果、全群において伸長型 tRNA<sup>Met</sup> である elongator tRNA<sup>Met</sup> (Met<sub>e</sub>)の顆粒形成が確認された。一方、同じ tRNA<sup>Met</sup> である initiator tRNA<sup>Met</sup> (Met<sub>i</sub>)に関しては明らかな顆粒形成は認められなかった。また、4,6-diamino-2-phenylindole (DAPI)との共染色の結果、Met<sub>e</sub> 顆粒は細胞質に存在することを明らかにした。
2. H1299 細胞株は p53 を欠損しているため、結果が p53 欠損株に特異的な反応かを確認するために野生型 p53 を発現させた細胞株(wt p53 H1299)でも同様の照射実験をおこなった。結果としては H1299 の時と同様に Met<sub>e</sub> に特異的に顆粒形成を認め、Met<sub>i</sub> では確認されなかった。
3. H1299 細胞に関して形成された Met<sub>e</sub> の顆粒が既知のストレス応答に関わるタンパク質と一致するかに関して検討を行った。結果として Met<sub>e</sub> 顆粒は TIA1 (T-cell intracellular antigen 1)と共局在することを明らかにした。また、Dcp1a (mRNA-decapping enzyme 1A)や PABP1 (polyadenylate binding protein 1)といったストレスマーカータンパク質とは一致を認めなかった。
4. 他の非小細胞肺癌系列細胞 A549 においても照射実験を行った。H1299、wt-p53 H1299 と同様に Met<sub>e</sub> に関しては顆粒の形成が検出された一方、Met<sub>i</sub> では明らかな顆粒形成は確認できなかった。共染色に関しても H1299 系列の時と同様に、Met<sub>e</sub> 顆粒の位置は Dcp1a、PABP1 とは一致せず、TIA1 と一致した。

以上、本研究はヒト由来培養細胞株を用いてエックス線照射時のメチオニン tRNA の細胞内局在変化を明らかとした。この結果は、放射線ストレスによる tRNA への影響を理解するに際して重要な位置付けをなし、新たな知見となりうる可能性を有する。よって、本研究は学位の授与に値するものと考えられる。