

Title	植物遺伝子導入による動物細胞への酸化ストレス耐性付与
Author(s)	新留, 剛
Citation	
Issue Date	2003-03
Type	Thesis or Dissertation
Text version	none
URL	http://hdl.handle.net/10119/3022
Rights	
Description	Supervisor:高木 昌宏, 材料科学研究科, 修士

新留 剛 (高木研究室)

< 目的 > 植物や藻類、一部の酵母には、重金属毒性に対してグルタチオンを基質としてファイトケラチン合成酵素(PCS)によりファイトケラチン(PC)を生合成することで無毒化している。現在までに、我々は植物(*Arabidopsis thaliana*)由来の PCS 遺伝子を導入した動物細胞(Jurkat-PCS)にカドミウム耐性を付与することに成功した。そこで Jurkat-PCS 細胞がカドミウム以外の物理化学的ストレス(活性酸素や紫外線(UV)、熱、浸透圧など)や外部環境ストレス(飢餓や凍結・融解)に対して耐性を示すのかを調べることを目的とした。

< 方法 > ヒト白血病性 T 細胞株 Jurkat 細胞由来の Jurkat-PCS 細胞と Jurkat-vector 細胞(ベクターのみの組換え体)を用いて細胞増殖試験(MTS Assay)を行い、様々な物理化学的ストレスに対する細胞の生存率曲線を作成した。さらに Jurkat-PCS 細胞において耐性を示す条件に対しては、細胞死に関する生化学的特徴や形態学的特徴の観察を行い、PCS 遺伝子による死滅シグナルの抑制効果についての解析も行った。

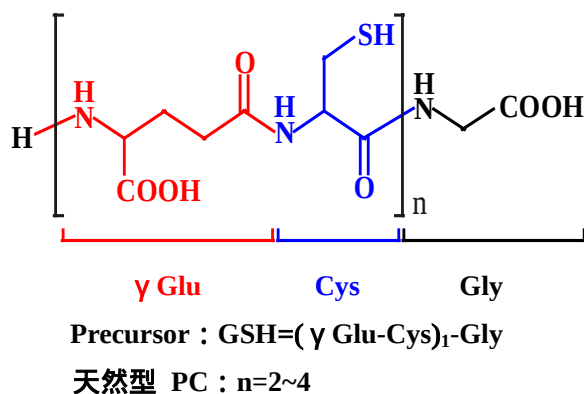


図 1 : Phytochelatin の化学構造

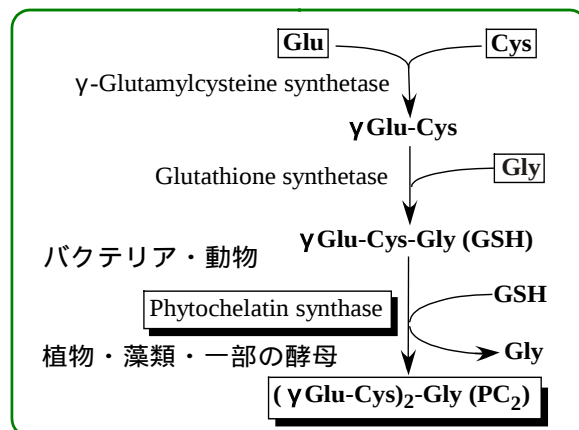


図 2 : PC の生合成経路

< 結果 > Jurkat-PCS 細胞、Jurkat-vector 細胞の両細胞のストレス耐性を比較したところ、Jurkat-PCS 細胞は熱、浸透圧には耐性を示さなかった。しかし、活性酸素発生物質であるパラコートや過酸化水素に対して明らかに耐性を示し、UV 照射に対しても僅かながら耐性を示した。また、抗酸化物質添加により外部環境ストレスに対しても耐性を示す結果となった。耐性が示されたパラコートによる細胞死において、Jurkat-PCS 細胞は、Jurkat-vector 細胞と比較してアポトーシスとネクローシスの両方の割合が減少し、細胞内活性酸素発生量も減少していることが明らかとなった。また、死滅シグナルの抑制効果の解析においても MAPK(特に p38)の活性化が弱く遅くなっていることも明らかとなった。このことから PCS 遺伝子を保持する動物細胞は活性酸素が関与するストレスに対して耐性を示すと考えられた。

Keyword : phytochelatin , reactive oxygen , oxidative stress

Copyright:(C) 2003 by TSUYOSHI SHINDOME