



琉球大学学術リポジトリ

University of the Ryukyus Repository


Title	COPA and SLC4A4 are required for cellular entry of arginine-rich peptides(Abstract_論文要旨)
Author(s)	圓谷, 智之
Citation	
Issue Date	2014-02-28
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12000/29019
Rights	

(別紙様式第3号)

論 文 要 旨

論 文 題 目

COPA and SLC4A4 are required for cellular entry of arginine-rich peptides
(アルギニンリッチペプチドの細胞内侵入には COPA および SLC4A4 が必要とされる)

氏 名 圓谷 智之 

【背景】細胞膜を通過できない巨大分子や親水性物質を細胞内に導入する方法として、細胞膜透過性ペプチド (cell-penetrating peptides : CPP) の開発が進められている。しかし、CPPの細胞内侵入の分子機構の多くは不明である。CPPの細胞内侵入の効率を高めるために、侵入に関与する遺伝子の同定と、その分子機構を解明することが必要とされる。本研究ではゲノムワイドな siRNA ライブラリーを用いて、カチオン性 CPP の一種である 9-Arginine (9R) の細胞侵入に必要な遺伝子の系統的なスクリーニングを行い、その分子メカニズムの検討を行った。
【方法】(1) 培養した HeLa 細胞に、991 種の細胞膜機能関連遺伝子の siRNA を各 50nM の濃度で transfection し、遺伝子抑制を行った。72 時間後、FITC-9R を 10 μ M の濃度で添加し、1 時間後に共焦点顕微鏡にて蛍光強度を確認した。(2) (1) より同定された COPA、SLC4A4 遺伝子に蛍光蛋白質を融合し、HeLa 細胞において過剰発現させてその局在を確認した。また、それらの遺伝

ラリースクリーニングを行った。これにより、
二つの膜関連遺伝子、COPAとSLC4A4を同定した。
これらの遺伝子の抑制により、HeLa細胞への
9RとTATペプチドの侵入は顕著に減少した。
SLC4A4遺伝子は、ナトリウム重炭酸共輸送体
(NBCe1)をコードする。細胞膜局在のNBCe1は、
カチオン性CPPが結合するために必要とされ
る。NBCe1はまた、エンドサイトーシスに関与
することが以前の研究で示されている。これ
らの研究と今回の結果より、カチオン性ペプ
チドは細胞膜上でSLC4A4(NBCe1)に結合し、エン
ドサイトーシスにより細胞内に侵入すること
が示唆された。COPA遺伝子はB-COPI複合体の
 α -subunitをコードする。過去の研究ではCOP複
合体による膜輸送機能の調節を介して、エン
ドソームの成熟に関与することが示されてい
る。今回の結果より、TATと9Rの細胞侵入には
COPAとSLC4A4が協調して関与していると考えら
れ、そこにはエンドサイトーシス様の機構が
必要と考えられる。